VOLUMEN 2 JULIO 1954 FASCICULO 1

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

REVISTA DE BIOLOGIA TROPICAL



SAN JOSE COSTA RICA

CONSEJO CIENTIFICO

PROF. RODRIGO FACIO
Rector de la Universidad de Costa Rica

PROF. FABIO BAUDRIT M.
Decano de la Facultad de Agronomía

PROF. GONZALO MORALES V.
Decano de la Facultad de Ciencias

PROF. GONZALO GONZALEZ G.
Decano de la Facultad de Farmacia

PROF. HERNAN BOLAÑOS U.
Decano de la Facultad de Odontología

DR. CARLOS M. GUTIERREZ
Colegio de Médicos y Cirujanos

COMITÉ DE REDACCIÓN

PROF. ETTORE DE GIROLAMI

PROF. ALFONSO TREJOS

PROF. ARMANDO RUIZ

PROF. RAFAEL L. RODRIGUEZ

Toda la correspondencia, así como los artículos que se deseen someter para su publicación, deberán ser enviados a: Comité de Redacción de "REVISTA DE BIOLOGIA TROPICAL". Apartado 4500. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica, A. C.



REVISTA

DE

BIOLOGIA TROPICAL

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

VOLUMEN 2 JULIO, 1954 FASCICULO 1

SUMARIO

Rev. Biol. Trop. 2(1):1-28

Frequenza dei tumori benigni e maligni della tiroide in Costa Rica.

di

Ettore De Girolami* e Marcial Fallas Díaz**

(Ricevuto per la sua pubblicazione il 2 Giugno, 1954)

Il presente lavoro fa seguito ad una precedente pubblicazione di PICADO (8) nella quale egli affermava che: "Benché non esistessero dati statistici sulla distribuzione delle distrofie della tiroide in Centro America, tuttavia era noto, fin da bambini, che il numero delle persone portatrici di gozzo colloide in Costa Rica e specialmente nella capitale (San José), era cosí grande che i suoi abitanti erano chiamati *gozzuti*".

PICADO inoltre dimostró che in Costa Rica il peso medio della tiroide, sia negli uomini che nelle donne, subisce un aumento nel periodo postpuberale e della menopausa, e che le donne durante tutta la vita sono maggiormente soggette a dette variazioni di ipertrofia.

Un recente lavoro di VÍQUEZ (11) tende pure a riaffermare i dati anteriori, comunicando che in Costa Rica non esiste iodio nelle acque potabili, se si eccettua una piccola quantitá presente nell'acqua potabile di Limón, cittá portuale della costa atlantica.

Geograficamente il nostro paese é diviso da una cordigliera di montagne che superano i tre mila metri in due spartiacque: il versante atlantico con la provincia costiera di Limón e la provincia montagnosa di Cartago, le acque piovane delle quali sono piú cariche di iodio perché provenienti dall'evaporizzazioni iodate

---

*Cattedra di Istologia della Facoltá di Scienze della Universitá di Costa Rica. Clinica dei Tumori, dipartimento della lotta contro il cancro in Costa Rica.

**Divisione di Anatomia patologica dell'Ospedale "San Juan de Dios". Clinica dei Tumori, dipartimento della lotta contro il cancro in Costa Rica.

del Mare dei Caraibi; il versante pacifico con le provincie interne di San José Alajuela, Heredia nell' altipiano centrale (1000-2000 metri sul livello del mare) e le provincie costiere di Guanacaste e di Puntarenas le acque piovane delle quali scarseggiano di iodio (Fig. 1).

Interessati dai dati anteriormente citati, abbiamo considerato la possibilitá di fare uno studio statistico delle bopsie degli ammalati ricoverati all'Ospedale "San Juan de Dios" di San José durante il venticinquennio 1928-1953. In questo periodo furono eseguite 36.347 biopsie delle quali 903 risultarono positive per tumori della tiroide, pari al 2,42 per cento del totale. Di queste 874 sono costituite da tumori benigni (96,79 %) e 29 da neoplasie maligne (3,21 %).

Noi considereremo separatamente le neoplasie benigne dalle maligne cosí come le loro rispettive osservazioni.

Prima di iniziare a dare dati piú significativi desideriamo comunicare che in Costa Rica le prestazioni ospedaliere sono gratuite per cui la maggior parte dei pazienti che devono essere operati si ricoverano nell'Ospedale "San Juan de Dios" della capitale (San José). In queste condizioni crediamo che benché esista una piccola frazione di casi che potranno sfuggire alla nostra inchiesta, ció nonostante possiamo dare dei dati con frequenza convenzionale su 100.000 abitanti degni di fede.

AVVERTENZA

I dati annuali per sesso e per etá della popolazione di Costa Rica durante il periodo 1928 - 1953 non ci é stato possibile ottenerli. Dato che uno dei nostri obbiettivi é quello della distribuzione geografica per sesso e per etá in relazione al numero degli abitanti, siamo stati obbligati a rapportare tutti i casi del presente studio al censimento del 1950 (2), chiamando questo indice: FREQUENZA CONVENZIONALE *su 100.000 abitanti, che non si deve interpretare come indice di frequenza annuale.*

TUMORI BENIGNI

Consideriamo come benigni, in relazione al loro quadro istologico ed al loro quadro clinico iniziale, i seguenti tumori:

a) adenoma colloide (Fig. 2)

b) adenoma solido (Fig. 3)

c) tiroidite di Riedel (Fig. 4)

d) tiroidite di Hashimoto (Fig. 5)

e) morbo di Basedow (Fig. 6)

Il quadro I presenta il numero assoluto dei casi per sesso e le rispettive percentuali nei diversi tipi di tumori. Il quadro II presenta il numero assoluto dei casi nei differenti tumori con le rispettive percentuali per sesso.

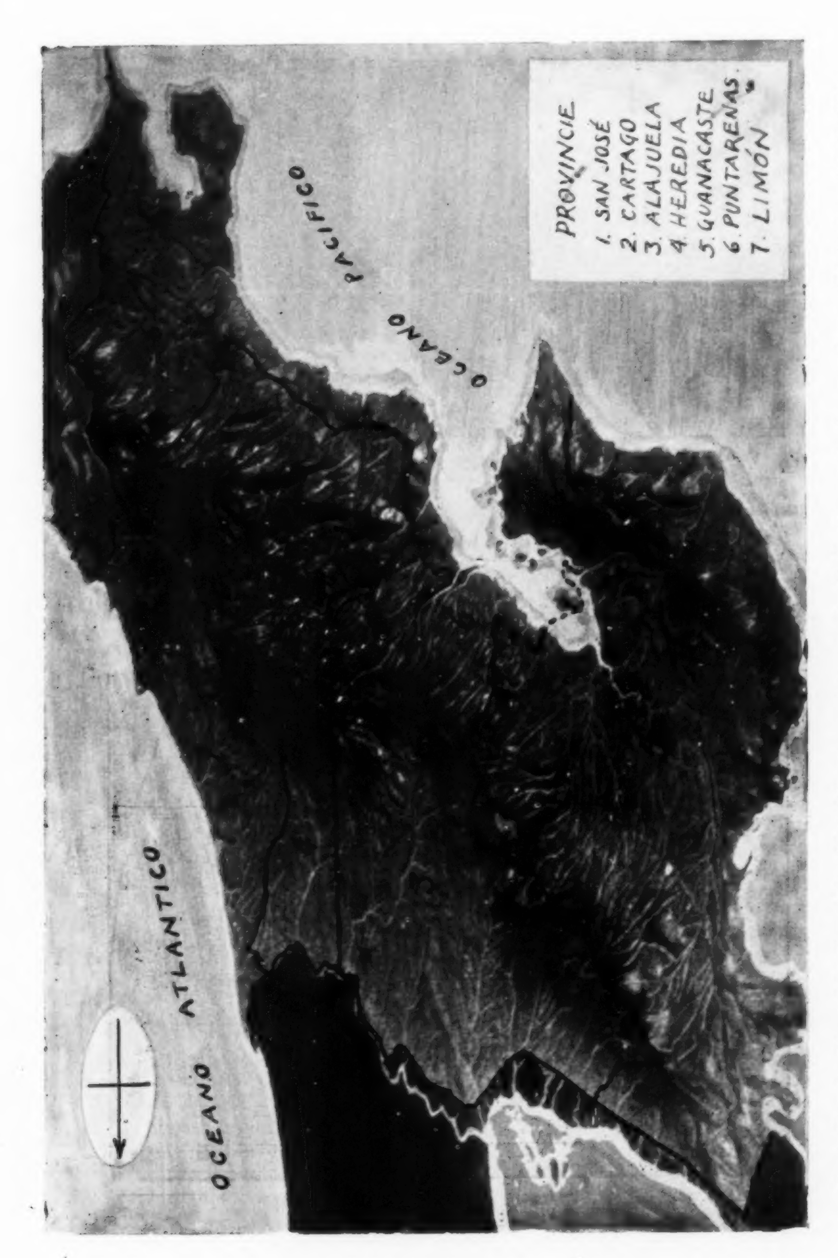


Fig. 1: Foto in rilievo della Costa Rica. Notasi la catena montuosa che divide il paese in due spartiacque, l'Atlantico ed il Pacifico.

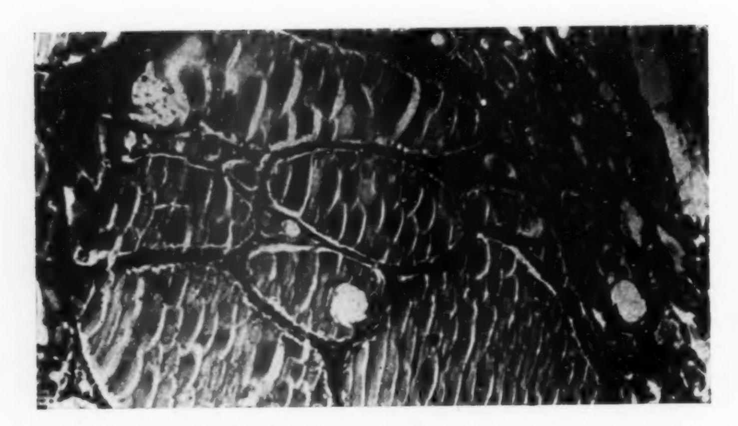


Fig. 2: *Adenoma colloide*

Presenza di polimorfismo e polidimensionalitá delle vescicole del parenchima tiroideo con epitelio uniforme. 100 ×

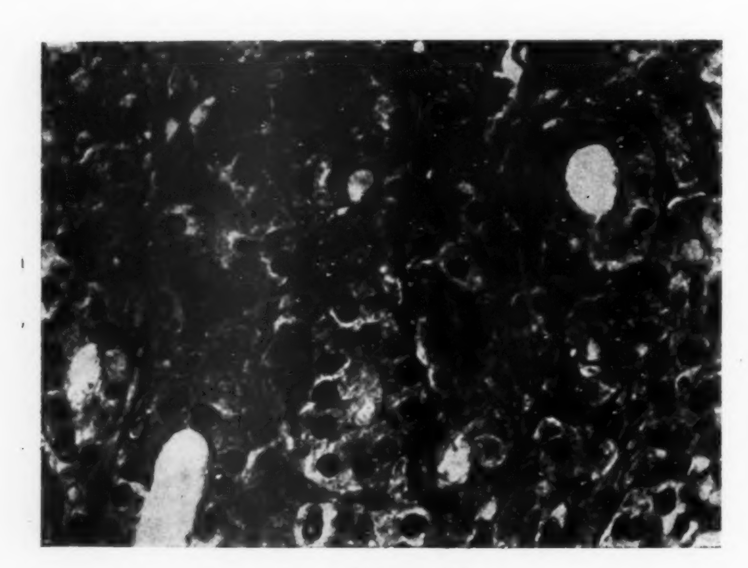


Fig. 3: *Adenoma solido*

Assenza assoluta di vescicole tiroidee con una distribuzione compatta degli epiteli a formare piccoli anelli o trabecole cosí da dare all'organo una struttura pseudoadenomatosa. 450 ×

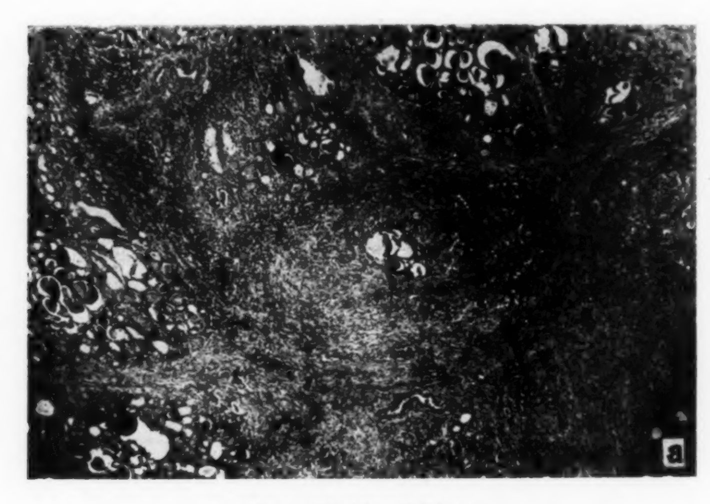


Fig. 4: *Tiroidite di Riedel*

a) Presenza di abbondante tessuto fibroso che comprime e deforma le vescicole. Reazione infiammatoria diffusa in seno allo stesso tessuto fibroso dandole un aspetto assomigliante ad una vecchia cicatrice. 40 × (*sopra*)
b); c) Particolari dell'anteriore. 100 × (*sotto*)

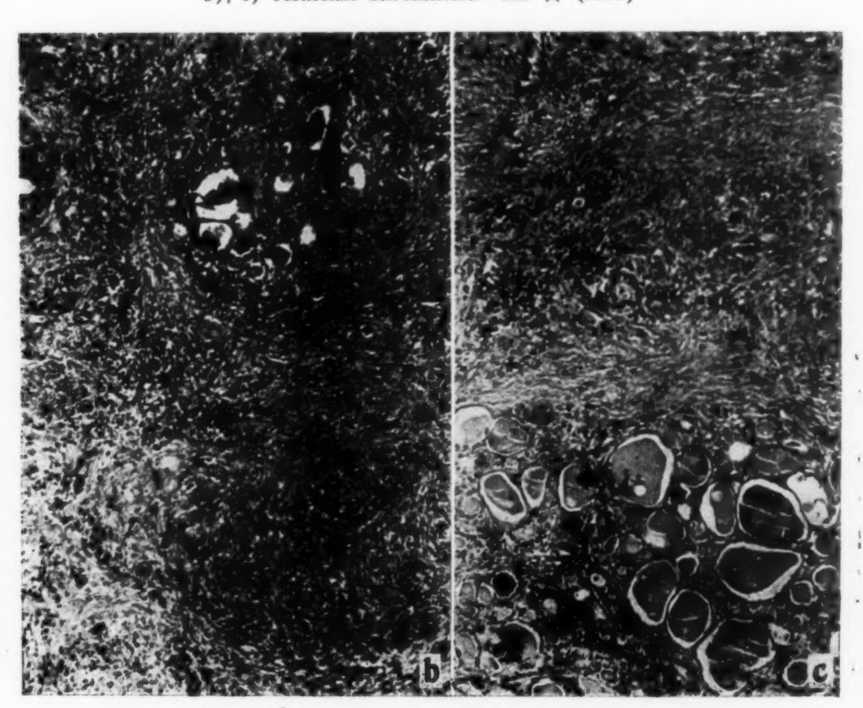




Fig. 5: *Tiroidite di Hashimoto*
Presenza di ammassi di linfociti simili a noduli linfatici. La distribuzione linfocitaria non é diffusa come nel Riedel se no di tipo focale ció che fa chiamare questa lesione gozzo linfoadenomatoso. Si nota inoltre la presenza di un tessuto fibroso che determina un minor spostamento ed una minor deformazione del parenchima tiroideo di quella del Riedel; cosí come l'assenza dell'aspetto cicatriziale. 100 ×

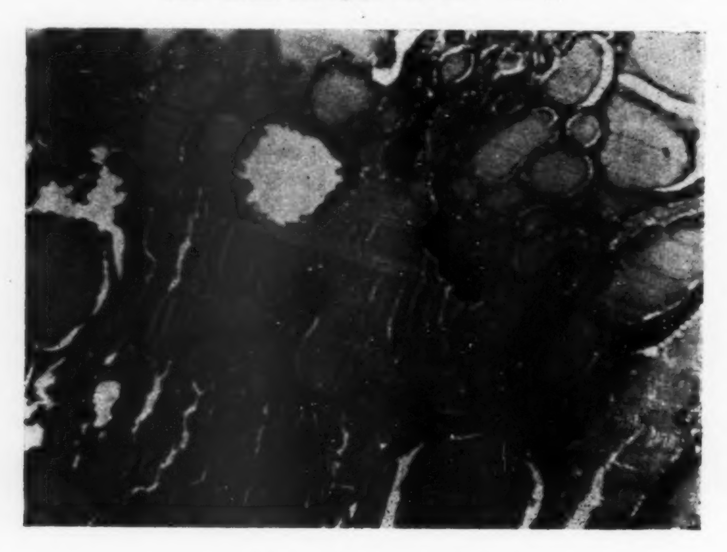


Fig. 6: *Morbo di Basedow*
Proiezione psudopapillomatosa intravescicolare dell'epitelio, caratteristica delle tiroeotossicosi. 100 ×

QUADRO I

Distribuzione numerica e percentuale dei tumori benigni per sesso secondo il tipo di tumore.

TIPO DI TUMORE	NUMERO DEI CASI					
	AMBI SESSI		MASCHILI		FEMMINILI	
	Cifre assolute	%	Cifre assolute	%	Cifre assolute	%
Totale	874	100,00	80	100,00	794	100,00
Adenoma colloide...	760	86,96	72	90,00	688	87,18
Adenoma solido	8	0,91	—	—	8	1,04
Tiroidite di Riedel	3	0,34	—	—	3	0,40
Tiroidite di Hashimoto	3	0,34	—	—	3	0,40
Morbo di Basedow	100	11,45	8	10,00	92	11,18

QUADRO II

Distribuzione numerica e percentuale dei tumori benigni per tipo di tumore secondo il sesso.

TIPO DI TUMORE	NUMERO DEI CASI					
	AMBI SESSI		MASCHILI		FEMMINILI	
	Cifre assolute	%	Cifre assolute	%	Cifre assolute	%
Totale	874	100,00	80	9,14	794	90,86
Adenoma colloide...	760	100,00	72	9,48	688	90,52
Adenoma solido	8	100,00	—	—	8	100,00
Tiroidite di Riedel	3	100,00	—	—	3	100,00
Tiroidite di Hashimoto	3	100,00	—	—	3	100,00
Morbo di Basedow	100	100,00	8	8,00	92	92,00

Nel quadro I si puó vedere che il maggior numero dei nostri tumori benigni é rappresentato dall'adenoma colloide 760 casi, pari al 86,96 per cento, su un totale di 874 casi; seguono in ordine il Morbo di Basedow con 100 casi (11,45 %), l'adenoma solido con 8 casi (0,91 %), la tiroidite di Riedel e di Hashimoto con 3 casi ciascheduna (0,34 %). Il sesso maschile é portatore unicamente di adenoma colloide 72 casi (90 %) e di Basedow 8 casi (10 %), al contrario il sesso femminile é portatore di tutti i tipi di tumore considerati i cui dati e percentuali si possono rilevare nel quadro I. Nel quadro II é interessante osservare che solo 72 casi (9,48 %) di sesso maschile sono affetti da adenoma colloide, dominando con 688 casi, pari al 90,52 per cento, il sesso femminile; ugualmente si puó dire del morbo di Basedow, maschili 8 (8 %), femminili 92 (92 %).

I casi di adenoma solido, tiroidite di Riedel e tiroidite di Hashimoto gravano unicamente sul sesso femminile (100 %).

Considereremo ora separatamente i differenti tumori benigni nei seguenti capitoli: 1. Adenoma colloide, 2. Morbo di Basedow, 3. Altri tumori benigni.

1. ADENOMA COLLOIDE.

Riferisce STANBURY (9) che alla conferenza internazionale sul gozzo endemico tenutasi nel "National Institute for Medical Research, Mill Hill" (Londra), nel dicembre del 1952, si sono rimarcate le seguenti necessitá:

1) Determinare con esattezza la distribuzione mondiale del gozzo endemico.
2) Definire con maggior precisione il rapporto fra gozzo endemico e la carenza dell'iodio.
3) Studiare i rapporti fra gozzo endemico e regime alimentare.
4) Studiare a fondo i rapporti fra gozzo endemico, debolezza mentale, ritardo della crescita e sordomutismo.
5) Fare degli studi relazionati con il metabolismo dell'iodio in individui carenti.
6) Riprendere gli studi sul rapporto del gozzo endemico e la durezza dell'acqua.
7) Continuare le ricerche sull'incidenza del carcinoma della tiroide nei paesi dove il gozzo é endemico.
8) Raccogliere dati riferentesi alla temperatura ed all'umiditá d'una determinata localitá con il fine di poter considerare quale é la forma d'immagazzinamento del sale con iodo (ioduri o iodati).

Nel limite del possibile cercheremo di attenerci ai parragrafi citati con lo scopo di seguire un ordine di lavoro che ci possa servire sia per il nostro paese, sia per coordinare i nostri dati con quell' internazionali.

I pazienti portatori di adenoma colloide sono stati suddivisi in tre gruppi principali, il primo comprende ambi i sessi, il secondo il sesso maschile ed il terzo quello femminile. I pazienti cosí suddivisi sono stati distribuiti nelle diverse

provincie calcolando la loro frequenza convenzionale cioé il numero di casi su 100.000 abitanti (quadro III). Concludendo i nostri dati sono basati in numero assoluto sulle biopsie della divisione di anatomia patologica dell'Ospedale "San Juan de Dios" di San José, ed in frequenza convenzionale sul censimento di Costa Rica del 1950 (2) (Vedi avvertenza a pag 2).

QUADRO III

Distribuzione geografica dell'adenoma colloide per provincie secondo il sesso.

PROVINCIE	NUMERO DEI CASI			FREQUENZA CONVENZIONALE SU 100.000 ABITANTI*		
	Ambi sessi	Maschili	Femminili	Ambi sessi	Maschili	Femminili
Di tutto il paese... ..	760	72	688	94,8	18,1	171,5
San José	485	42	443	172,0	31,0	301,8
Alajuela...	111	14	97	74,5	18,8	129,9
Cartago	37	4	33	36,7	7,8	66,1
Heredia...	30	1	29	57,9	3,9	109,7
Guanacaste	54	4	50	61,2	8,8	116,1
Puntarenas	27	6	21	30,6	12,6	51,4
Limón	16	1	15	38,6	4,5	77,1

Nel quadro III si osserva nel totale dei casi che la frequenza convenzionale per i maschi é di 18,1 mentre per le femmine é di 171,5. Detta proporzione di circa 10:1 in favore del sesso femminile si mantiene piú o meno in tutte le provincie fatta eccezione per quelle di Heredia e Limón dove il rapporto aumenta in favore del sesso femminile fino a piú di 25:1 e quella di Puntarenas dove si abbassa a 3:1. In Costa Rica quindi l'adenoma colloide é una malattia che colpisce preferibilmente il sesso femminile e questo dato é piú o meno ugualmente distribuito in tutto il paese. Un altro indice interessante che pone in evidenza il quadro III é la distribuzione progressiva dell'adenoma colloide nelle diverse provincie. Infatti basandoci sulla frequenza convenzionale di ambi i sessi possiamo ordinare progressivamente le provincie come segue: Puntarenas, Cartago, Limón, Heredia, Guanacaste, Alajuela e San José. Possiamo cosí confermare quanto anteriormente fu comunicato da PICADO (8) che la frequenza dell'ipertrofia della tiroide in Costa Rica va aumentando progressivamente via via che

dalle coste del pacifico ci innoltriamo verso l'altipiano centrale fino a raggiungere il suo apice nella capitale (San José); la frequenza discende passando, nel versante atlantico, alle provincie di Cartago e di Limón. I nostri dati della provincia del Guanacaste, non coincidono con quelli di PICADO, in quanto egli incontró unicamente il 12 % di ipertrofie della tiroide considerando detta provincia come la penultima in numero di casi, mentre noi abbiamo una maggior frequenza. Crediamo che la frequenza convenzionale dei nostri casi in Guanacaste, sia ancora alta per il fatto che la maggior parte degli abitanti vive nell'entroterra e non sulle coste. Al contrario la provincia di Puntarenas é formata da una striscia di terra i cui abitanti in maggior parte vivono lungo le coste del mare di quí la minor frequenza dell'ipertrofia della tiroide. Infine possiamo affermare che l'ipertrofia della tiroide di cui anche ne parla PICADO, si deve generalmente all'adenoma colloide e questo in particolare per le zone dell'altipiano e per le zone del versante del pacifico.

I pazienti del nostro studio furono in un secondo tempo distribuiti in ordine di etá (gruppi di cinque anni) mantenendo la suddivisione iniziale per sesso e per provincie.

Nel quadro IV (sesso maschile) si puó osservare che a parte il piccolo aumento della frequenza convenzionale nel gruppo fra i 20-24 anni (50,4) del totale dei casi nella Repubblica, dovuto forse al fatto della coincidenza dei pazienti delle diverse provincie in questo gruppo di etá, generalmente la frequenza convenzionale non subisce variazioni degne di menzione nei diversi gruppi di etá. Si nota pure, come giá rilevato altrove, l'esiguo numero di casi delle provincie di Cartago, Heredia, Guanacaste, Puntarenas e Limón. Nel quadro IV (sesso femminile) al contrario la frequenza convenzionale del totale dei casi della Repubblica segue una curva che va aumentando progressivamente nei diversi gruppi di etá raggiungendo il suo apice fra i 40 ed i 55 anni. Detta variazione di frequenza si mantiene piú o meno uguale anche considerando i gruppi di etá delle diverse provincie, fatta eccezione per le provincie di Cartago e di Limón dove la curva é sempre progressiva senza arco discendente. Interessante é pure il notare che nella provincia di Limón il primo caso di pazienti di sesso femminile si presenta solo nel gruppo di 20-24 anni mentre invece nelle altre provincie nel gruppo di etá fra i 15-19 anni c'é giá un discreto numero di casi, con una frequenza convenzionale di ben 422,4 nella provincia di San José. Nel quadro IV (ambi i sessi) le variazioni anteriormente citate sono mitigate dall'equilibrio delle medie fra i due sessi, peró possiamo osservare che in genere la frequenza convenzionale nei diversi gruppi di etá sia della Repubblica di Costa Rica che delle sue singole provincie é sufficientemente alta per poterci convincere che l'adenoma colloide é una malattia che colpisce piú o meno tutti i cittadini del nostro paese in tutti i suoi gruppi di etá.

Seguendo lo schema di STANBURY giá abbiamo anteriormente citato i lavori di PICADO e di VÍQUEZ tendenti ad affermare la mancanza di iodio nelle acque potabili di Costa Rica.

Vogliamo ora considerare la dieta giornaliera del costarricense.

JIMENEZ (4) afferma che la dieta del contadino di Costa Rica é sufficiente

GRUPPI DI ETÁ	DI TUTTO IL PAESE			SAN JOSE			ALA
	Ambi sessi	Uomini	Donne	Ambi sessi	Uomini	Donne	Ambi sessi
DISTRIBUZIONE NUMERICA DEI CASI							
Di tutte le etá	760	72	688	485	42	443	111
Da 10 a 14 anni	12	2	10	9	1	68	3
" 15 " 19 "	114	15	99	78	9	68	17
" 20 " 24 "	123	19	104	79	11	68	18
" 25 " 29 "	87	3	84	53	1	52	15
" 30 " 34 "	98	7	91	65	4	61	12
" 35 " 39 "	80	4	76	48	2	46	11
" 40 " 44 "	78	6	72	48	4	44	14
" 45 " 49 "	56	3	53	43	2	41	5
" 50 " 54 "	60	6	54	37	5	32	8
" 55 " 59 "	21	2	19	11	2	9	3
" 60 " 64 "	18	—	18	7	—	7	4
" 65 " 69 "	8	5	3	3	1	3	1
" 70 " 74 "	4	—	4	4	—	4	—
" 75 " 79 "	1	—	1	—	—	—	—
FREQUENZA CONVENZIONALE SU 100.000 ABITANTI*							
Di tutte le etá	94,8	18,1	171,5	172,0	31,0	301,8	74,5
Da 10 a 14 anni	12,2	4,0	20,5	27,0	1,5	117,7	15,6
" 15 " 19 "	123,4	37,1	225,6	257,3	6,4	422,4	108,5
" 20 " 24 "	159,6	50,4	263,0	281,6	17,2	444,5	135,3
" 25 " 29 "	157,1	10,4	274,1	307,0	10,4	448,7	147,4
" 30 " 34 "	206,0	29,3	383,8	380,6	49,6	676,0	140,3
" 35 " 39 "	170,8	17,4	317,5	278,8	25,0	487,0	135,6
" 40 " 44 "	214,3	32,7	398,5	355,6	62,7	617,9	217,8
" 45 " 49 "	199,2	21,2	379,5	406,9	39,6	742,7	100,4
" 50 " 54 "	248,2	50,2	438,5	407,0	115,2	673,5	181,8
" 55 " 59 "	133,6	23,3	242,7	183,4	72,3	279,2	106,0
" 60 " 64 "	120,6	—	249,3	125,2	—	239,8	147,9
" 65 " 69 "	87,5	106,0	67,8	86,4	61,3	108,6	98,4
" 70 " 74 "	60,9	—	122,9	160,3	—	297,6	—
" 75 " 79 "	27,5	—	56,5	—	—	—	—

*Vedi avvertenza pag. 2

QUADRO IV

fica dell'adenoma colloide per provincia, sesso ed etá con frequenza convenzionale su 100.000

PROVINCIE

ALAJUELA			CARTAGO			HEREDIA			GUAN
Ambi sessi	Uomini	Donne	Ambi sessi	Uomini	Donne	Ambi sessi	Uomini	Donne	Ambi sessi
111	14	97	37	4	33	30	1	29	54
3	1	2	—	—	—	—	—	—	—
17	3	14	8	1	7	4	—	4	2
18	2	16	8	1	7	4	1	3	9
15	2	13	5	—	5	7	—	7	3
12	2	10	2	—	2	5	—	5	11
11	1	10	3	1	2	1	—	1	12
14	1	13	3	—	3	4	—	4	4
5	—	5	—	—	—	—	—	—	5
8	1	7	3	—	3	2	—	2	4
3	—	3	2	—	2	2	—	2	1
4	—	4	2	—	2	—	—	—	1
1	1	—	1	1	—	1	—	1	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
74,5	18,8	129,9	36,7	7,8	66,1	57,9	3,9	109,7	61,2
15,6	10,2	21,2	—	—	—	—	—	—	—
108,5	40,0	171,3	72,3	18,3	125,0	72,1	—	136,9	21,3
135,3	31,3	230,9	84,3	21,6	143,9	81,1	42,3	121,3	117,8
147,4	41,0	244,9	70,8	—	137,0	196,5	—	375,5	50,1
140,3	46,5	234,7	36,3	—	73,2	167,1	—	317,6	239,6
135,6	25,3	242,8	50,5	39,0	72,9	32,6	—	60,3	262,8
217,8	30,8	407,7	65,8	—	136,9	159,3	—	303,0	115,4
100,4	—	203,3	—	—	—	—	—	—	178,3
181,8	44,5	324,9	107,8	—	227,6	227,1	—	221,4	177,6
106,0	—	219,2	111,2	—	223,4	168,8	—	334,4	65,5
147,9	—	296,7	112,1	—	383,1	—	—	—	69,9
98,4	119,4	—	93,2	181,8	—	146,6	—	301,2	111,6
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	271,0

*e su 100.000 abitanti**

E

GUANACASTE			PUNTARENAS			LIMON		
Ambi sessi	Uomini	Donne	Ambi sessi	Uomini	Donne	Ambi sessi	Uomini	Donne
54	4	50	27	6	21	16	1	15
—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	—	2	4	1	3	1	1	—
9	2	7	4	2	2	1	—	1
3	—	3	1	—	1	3	—	3
11	1	10	3	—	3	—	—	—
12	—	12	4	—	4	1	—	1
4	—	4	3	1	2	2	—	2
5	—	5	1	1	—	2	—	2
4	—	4	3	—	3	3	—	3
1	—	1	2	—	2	—	—	—
1	—	1	1	—	1	3	—	3
1	1	—	1	1	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—
1	—	1	—	—	—	—	—	—
61,2	8,8	116,1	30,6	12,6	51,4	38,6	4,5	77,1
—	—	—	—	—	—	—	—	—
21,3	—	43,2	46,1	23,3	68,6	27,3	56,0	—
117,8	51,9	185,0	40,2	35,2	49,9	26,8	—	56,0
50,1	—	98,0	12,5	—	28,9	92,9	—	190,3
239,6	42,2	449,4	50,0	—	116,6	—	—	—
262,8	—	542,7	68,6	—	154,5	36,2	—	75,1
115,4	—	247,6	78,2	45,8	120,9	94,8	—	225.7
178,3	—	377,9	35,5	62,6	—	118,1	—	272,8
177,6	—	379,8	129,0	—	305,1	187,7	—	434,1
65,5	—	139,4	154,0	—	342,4	—	—	—
69,9	—	152,2	92,7	—	212,3	259,0	—	724,6
111,6	203,6	—	149,9	252,5	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—
271,0	—	366,3	—	—	—	—	—	—

in carboidrati, scarseggia in proteine ed é minima in grassi. Le proteine di origine animale, le piú importanti perché contenenti tutti gli amminoacidi indispensabili, scarseggiano nella dieta mentre invece abbondanti sono le proteine vegetali contenute nel mais, riso e faggioli. I carboidrati i costarricensi li consumano in grande quantitá, piú di 600 gr. diari; al contrario i grassi entrano in piccolissima parte nella dieta e soppratutto i lipoidi (lecitina e colesterina). Per maggior chiarezza diamo una lista degli alimenti in uso in Costa Rica e del loro consumo.

QUADRO V

Alimenti dei costarricensi e loro consumo.

ALIMENTO	CONSUMO
Riso	costante
Faggioli	costante
Pane	"
Tortilla (focaccia di mais)	costante alternato con pane
Carne	scarso
Solanum tuberosum	frequente
Manihot dulcis	"
Manihot esculenta	"
Sechium edule	"
Cucurbita pepo	"
Cucurbita pepo var. hort.	"
Palokowskia tacaco	"
Musa paradisiaca	"
Musa sapientium	"
Daucus carota	scarso
Arracacia xanthorhiza	"
Lactuca	"
Lycopersicum esculentum	"
Capsicum annuum	"
Latte	"
Acqua dolce	frequente
Burro	scarso
Olio d'oliva	assente
Olio di semi di girasole	scarso
Grasso di maiale	"
Pesce	"

Abbiamo intervistato le persone piú competenti del paese per avere delle informazioni riguardo il cretinismo endemico ed il sordomutismo, dato che non esistono procedenti lavori a cui riferirci.

Il dottor Fernando Quirós Madrigal, direttore dell'Asilo Chapuí, manicomio

centrale di Costa Rica, ci comunica che in Costa Rica i casi di cretinismo endemico classico come é frequente in certe zone europee (Valtellina, Bergamasco (Italia), Svizzera ecc. ecc.), sono da considerarsi sporadici, al contrario é frequente il mongolismo nei bambini, e gli infermi mentali ricoverati in gran parte sono portatori d'ipertrofia della tiroide. Il dottor Carlos L. Estrada Fernández, assistente della divisione di otorrinolaringoiatria dell'Ospedale "San Juan de Dios" di San José, ci comunica che non ha mai avuto occasione di vedere un caso di sordomutismo dovuto a gozzo; esistono sí, dice, casi di sordomutismo peró sono dovuti in genere a malattie infettive come il morbillo, la varicella, la parotite epidemica, ed a forme di lue congenita.

I dati biometrici mancano. Ugualmente non c'é nulla di scritto riguardo il metabolismo dell' iodio in individui carenti.

I dati della durezza totale delle acque potabili di Costa Rica ci furono comunicati dal Ministero di Salute Pubblica [1] e quí li trascriviamo:

"Questi dati sono stati ricopiati dagli archivi della Sezione "Acque Potabili" del Ministero di Salute Pubblica e basati sui risultati delle analisi chimiche delle acque eseguite dal Laboratorio Chimico dello stesso Ministero.

La durezza totale delle acque, espressa come carbonato di calcio, per le rispettive provincie e per tutta la nazione é la seguente:

PROVINCIA DI SAN JOSE

su 44 analisi effettuate la durezza totale media é di 53 p. p. m., con una durezza totale massima di 140 p. p. m. ed una minima di 4 p. p. m.

PROVINCIA DI ALAJUELA

su 21 analisi effettuate la durezza totale media é di 49 p. p. m., con una durezza totale massima di 83 p. p. m. ed una minima di 23 p. p. m.

PROVINCIA DI CARTAGO

su 14 analisi effettuate la durezza totale media é di 53 p. p. m., con una durezza totale massima di 121 p. p. m. ed una minima di 23 p. p. m.

PROVINCIA DI HEREDIA

su 6 analisi effettuate la durezza totale media é di 108 p. p. m., con una durezza totale massima di 450 p. p. m. ed una minima di 9 p. p. m.

PROVINCIA DI GUANACASTE

su 14 analisi effettuate la durezza totale media é di 83 p. p. m. con una durezza totale massima di 161 p. p. m. ed una minima di 4 p. p. m.

PROVINCIA DI PUNTARENAS

su 8 analisi effettuate la durezza totale media é di 41 p. p. m, con una durezza totale massima di 79 p. p. m. ed una minima di 5 p. p. m.

PROVINCIA DI LIMON

si sono effettuate solo 5 analisi delle quali 4 nel fiume "Ba-

(1) Ringraziamo l'Ing. Victor M. Castro E., assistente del S. C. I. S. P., che si é personalmente interessato per favorirci i dati della Sezione "Acque Potabili" del Ministero di Salute Pubblica di Costa Rica.

nano" con una durezza totale media di 153 p. p. m., una massima di 156 p. p. m. ed una minima di 147 p. p. m. La durezza totale media di tutta la provincia é di 137 p. p. m

REPUBBLICA DI COSTA RICA

su 112 analisi effettuate la durezza totale media é di 74,86 p. p. m., con una durezza totale massima di 450 p. p. m. ed una minima di 4 p. p. m."

Osservando questi dati notiamo che la distribuzione progressiva per provincie in rapporto alla media della durezza delle acque potabili in Costa Rica, espressa come carbonato di calcio, é la seguente: Puntarenas (41 p. p. m.), Alajuela (49 p. p. m.), San José (53 p. p. m.), Cartago (53 p. p. m.), Guanacaste (83 p. p. m.), Heredia (108 p. p. m.) e Limón (137 p. p. m.).

La durezza totale massima fu osservata nella provincia di Heredia (450 p. p. m.) e la minima in quella di San José (4 p. p. m.). Nella provincia di Limón é da notarsi che l'acqua potabile si mantiene piú o meno della medesima durezza mentre che nelle altre provincie c'é una grande variazione. Questo dato forse é interessante se consideriamo che nella provincia di Limón il numero degli adenomi colloide é minimo, peró non possiamo prenderlo con molta considerazione se osserviamo che invece la provincia di Puntarenas che é quella con l'acqua potabile meno dura é anche quella con minor numero di casi di adenoma colloide

Il direttore del Servizio Meteriologico del Ministero di Agricultura ed Industria, Professor Elliot Coen Paris, ci informa che la temperatura media annuale in San José ed in tutta la zona fra gli 800 ed i 2000 metri varia intorno ai 20 gradi centigradi mentre che nelle zone costiere ascende ad una media di circa 26 gradi centigradi. L'umiditá relativa pure varia fra le zone dell'entroterra, dove la media annuale é del 78 %, e quelle delle coste del pacifico e dell'atlantico dove raggiunge l'85 ed il 90 %.

Il capitolo riguardante l'incidenza del carcinoma della tiroide nei paesi dove il gozzo é endemico lo tratteremo piú avanti.

In conclusione possiamo affermare che in Costa Rica l'adenoma colloide é una malattia molto frequente, sopratutto nel sesso femminile, e la sua distribuzione segue una curva ascendente a partire dalle coste del pacifico fino a raggiunge il suo apice nella provincia di San José per poi discendere a valori minimi sulle coste dell'atlantico. Nel sesso maschile la frequenza convenzionale nei diversi gruppi di etá é piú o meno uniforme mentre nel sesso femminile aumenta specialmente fra i 40-55 anni, ció nonostante crediamo che, come si puó osservare nel Quadro IV, buona parte dei cittadini delle differenti zone sono portatori di adenoma colloide. La mancanza di iodio nelle acque potabili, il genere di alimentazione e forse la scarsa durezza delle acque potabili (74,86 p. p. m. media della Repubblica), espressa come carbonato di calcio, sono per ora gli unici dati positivi che abbiamo a nostra disposizione da considerare come cause etiopatogenetiche della malattia. Se da quanto ci riferiscono i dottori Quirós ed Estrada, i quadri clinici del cretinismo endemico e sordomutismo non sono frequenti in Costa Rica, dobbiamo pensare che se esiste il gozzo endemico, questo non raggiunge uno stato tossico tale da determinare il quadro del cretinismo del sordomutismo ecc. ecc. In ogni modo non ci possiamo permettere di fare delle

congetture al di lá delle nostre possibilitá ed anzi desideriamo manifestare la necessitá di pubblicazioni sui seguenti temi dato che nel nostro paese é cosí frequente l'adenoma colloide:

a) relazione fra ipertrofia della tiroide e debolezza mentale.
b) sordomutismo e gozzo colloide.
c) biometria in Costa Rica.
d) durezza delle diverse acque potabili in Costa Rica.
e) il metabolismo dell'iodio in individui portatori di ipertrofia della tiroide.

Se uno dei fattori etiopatogenetici fondamentali dell'adenoma colloide é costituito dall'iodio, se come dai dati trasmessici dal direttore del Servizio Meteriologico la temperatura e l'umiditá non permettono l'uso dei composti di iodio in forma di ioduri, noi consigliamo l'uso degli iodati. Gli iodati presentano sugli ioduri il vantaggio di una maggior stabilitá, inoltre il tenore in iodio del sale iodato rimane relativamente costante anche se in condizioni svantaggiose d'umiditá, di temperatura e di luce solare. Alla conferenza internazionale sul gozzo endemico, tenutasi in Londra nel dicembre del 1952, si decise che la dose giornaliera di iodio necessaria per la profilassi del gozzo endemico era di 0,1 mg. e che detta dose era di molto inferiore alla dose tossica minima. Consigliamo di seguire queste misure precauzionali.

2. MORBO DI BASEDOW

É noto (10) che il morbo di Basedow é la malattia della civiltá e che la sua frequenza é in continuo progresso specialmente nei paesi dove la vita é molto piú intensa. La donna in genere ne é maggiormente colpita e la causa eziologica si é cercato di trovarla nei piccoli traumi psichici e morali, spesso ripetuti, ansietá, preoccupazioni, paure ecc. Sono noti pure casi dovuti a malattie infettive acute e sono pure interessanti quelli dovuti ad uso eccessivo di iodio in individui particolarmente predisposti. Nelle regioni in cui il gozzo é una malattia endemica si sono verificati pure casi di gozzo basedowificato. Nel presente lavoro noi possiamo affermare che questa circostanza é possibile in quanto il 40 per cento dei casi che noi consideriamo in questo capitolo furono diagnosticati istologicamente da uno di noi (M.F.) come adenomi basedowificati. Nel quadro I si puó osservare che il morbo di Basedow incide sulla totalitá dei tumori benigni dell' 11,45 per cento. Nel quadro II si nota che il 92 per cento dei casi colpisce il sesso femminile e solo l'8 per cento quello maschile. Possiamo quindi dire a priori che anche in Costa Rica il morbo di Basedow colpisce prevalentemente le donne e che sono sporadici i casi in uomini.

Seguendo lo schema usato per l'adenoma colloide' i pazienti sono stati suddivisi in tre gruppi principali, il primo comprende ambi i sessi, il secondo il sesso maschile ed il terzo quello femminile; i pazienti cosí suddivisi sono stati distri-

buiti nelle diverse provincie calcolando la loro frequenza convenzionale. Nel quadro VI si osserva, nel totale dei casi di tutto il paese, che la frequenza convenzionale per i maschi é di 2 mentre quella delle femmine é di 22,8 con una proporzione di 11,5:1 in favore del sesso femminile. I casi di sesso maschile si presentano unicamente nelle provincie di Limón, Cartago, San José e Guanacaste.

QUADRO VI

*Distribuzione geografica del morbo di Basedow per provincia e per sesso con frequenza convenzionale su 100.000 abitanti**

PROVINCIE	NUMERO DEI CASI			FREQUENZA CONVENZIONALE SU 100.000 ABITANTI*		
	Ambi sessi	Maschili	Femminili	Ambi sessi	Maschili	Femminili
Di tutto il paese... ...	100	8	92	12,4	2,0	22,8
San José...	60	4	56	21,2	2,9	38,1
Alajuela	9	—	9	6,0	—	12,0
Cartago...	14	2	12	13,8	3,9	24,0
Heredia...	4	—	4	7,7	—	15,1
Guanacaste	4	1	3	4,5	2,2	6,9
Puntarenas	2	—	2	2,2	—	4,9
Limón	7	1	6	14,5	4,6	30,8

* Vedi avvertenza pag. 2

Cosí come si fece per l'adenoma colloide basandoci sulla frequenza convenzionale in ambi i sessi (quadro VI), abbiamo distribuito le provincie in ordine progressivo: Puntarenas, Guanacaste, Alajuela, Heredia, Cartago, Limón e San José. La curva presente é ben differente da quella dell'adenoma colloide; quí si vede che la frequenza dei casi rispetto alla distribuzione geografica del morbo di Basedow in Costa Rica, é molto piú alta in San José e nelle provincie del versante atlantico e che la curva discende via via che ci portiamo verso le coste del pacifico. Quali potrebbero essere le cause di tale distribuzione? In primo luogo dobbiamo considerare che San José é l'unica cittá del paese che offre una vita movimentata e quindi il fattore trauma psichico é quí piú rimarcabile; secondariamente abbiamo giá detto che le acque piovane della zona atlantica sono piú ricche di iodio. Come problema generale dobbiamo anche prendere in consi-

derazione l'altissima frequenza del gozzo colloide e la sua possibile trasformazione in adenoma basedowificato come comprova il 40 per cento delle nostre biopsie.

I pazienti furono in un secondo tempo distribuiti in ordine di etá, mantenendo la suddivisione iniziale per sesso e per provincie.

Nel quadro VII (sesso maschile), a parte l'esiguo numero di casi che non ci puó permettere di trarre delle conclusioni attendibili, osserviamo che si tratta solo di pazienti fra i 15 ed i 34 anni, periodo della massima attivitá sessuale dell'uomo.

Se noi confrontiamo il quadro VII (sesso femminile m. Basedow) con il quadro IV (sesso femminile dell'adenoma colloide), osserviamo:

a) che nel Basedow la piú alta frequenza convenzionale, nel totale dei casi di tutto il paese, si trova tra il gruppo di etá 40-44 mentre nell'adenoma colloide é fra i 50-54.

b) che nel Basedow non ci sono casi oltre i 54 anni mentre nell'adenoma colloide si arriva fino ai 79 anni.

c) che esiste un caso fra i 5-9 anni mentre nell'adenoma colloide il caso piú giovane sta fra i 10-14 anni.

d) che il dato di maggior frequenza convenzionale di tutto il paese si trova nel gruppo di etá 30-34 della provincia di Limón (226,7).

e) che, benché il numero totale dei pazienti fosse inferiore a quello dell'adema colloide, il rapporto della frequenza convenzionale fra i gruppi delle diverse etá di morbo di Basedow, sia in tutto il paese che nelle rispettive provincie, dimostra che c'é una relativa maggior frequenza in gruppi di etá giovani.

I parragrafi a), b), e), ci dimostrano che il morbo di Basedow, al contrario che l'adenoma colloide, é una malattia che colpisce il sesso femminile sopratutto nel periodo della sua attivitá sessuale.

Concludendo crediamo che in Costa Rica il distiroidismo non sia molto frequente e che probabilmente gran parte di questi casi non sono che adenomi colloidi basedowificati; in Costa Rica, come negli altri paesi, il sesso femminile é il piú colpito dal morbo di Basedow ed in particolare durante il periodo sessuale; i casi si incontrano sopratutto in San José e nelle provincie dei versante atlantico.

3. ALTRI TUMORI BENIGNI.

Abbiamo raggruppato a parte i rimanenti tipi di tumori benigni dato che il loro numero era di solo 14 casi in tutto e dato che ne era colpito solamente il sesso femminile (100 %, quadro II).

Di questi 14 casi, 8 sono rappresentati da adenomi solidi con una incidenza del 0,91 per cento sul totale di tumori benigni considerati (quadro I) ed una frequenza del 100 per cento (quadro II) nel sesso femminile.

GRUPPI DI ETÁ	DI TUTTO IL PAESE			SAN JOSE		
	Ambi sessi	Donne	Uomini	Ambi sessi	Donne	Uomini
DISTRIBUZIONE NUMERICA DEI CASI						
Di tutte le etá	100	8	92	60	4	56
Da 5 a 9 anni	1	—	1	1	—	1
" 10 " 14 "	2	—	2	2	—	2
" 15 " 19 "	17	2	15	11	1	10
" 20 " 24 "	18	3	15	10	2	8
" 25 " 29 "	20	2	18	12	1	11
" 30 " 34 "	14	1	13	7	—	7
" 35 " 39 "	9	—	9	6	—	6
" 40 " 44 "	11	—	11	9	—	9
" 45 " 49 "	5	—	5	1	—	1
" 50 " 54 "	3	—	3	1	—	1
FREQUENZA CONVENZIONALE SU 100.000 ABITANTI*						
Di tutte le etá	12,4	2,0	22,8	21,2	2,9	38,1
Da 5 a 9 anni	0,8	—	1,8	2,7	—	5,4
" 10 " 14 "	2,0	—	4,1	6,0	—	11,9
" 15 " 19 "	20,1	4,9	34,2	36,2	7,1	61,2
" 20 " 24 "	23,3	7,9	38,0	35,6	15,6	52,3
" 25 " 29 "	33,8	6,9	59,0	56,6	10,4	94,9
" 30 " 34 "	29,4	4,1	54,8	40,9	—	77,5
" 35 " 39 "	19,3	—	37,6	34,8	—	64,9
" 40 " 44 "	20,2	—	60,8	66,6	—	126,4
" 45 " 49 "	17,7	—	35,8	9,4	—	18,1
" 50 " 54 "	12,4	—	25,3	11,0	—	21,0

*Vedi avvertenza pag. 2

QUADRO VII

tribuzione geografica del morbo di Basedow per provincia sesso ed etá con frequenza convenzion

P R O V I N C										
J O S E		A L A J U E L A			C A R T A G O			H E R E D I A		
onne	Uomini	Ambi sessi	Donne	Uomini	Ambi sessi	Donne	Uomini	Ambi sessi	Donne	Uomi
4	56	9	—	9	14	2	12	4	—	
—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1	10	2	—	2	3	1	2	1	—	
2	8	4	—	4	4	1	3	—	—	—
1	11	—	—	—	3	—	3	2	—	
—	7	1	—	1	1	—	1	—	—	—
—	6	1	—	1	1	—	1	—	—	—
—	9	—	—	—	1	—	1	—	—	—
—	1	—	—	—	1	—	1	1	—	
—	1	1	—	1	—	—	—	—	—	—
2,9	38,1	6,0	—	12,0	13,8	3,9	24,0	7,7	—	15
—	5,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	11,9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7,1	61,2	12,7	—	24,4	27,1	18,3	35,7	1,8	—	3
15,6	52,3	30,0	—	57,7	42,1	21,6	61,7	—	—	—
10,4	94,9	—	—	—	42,5	—	82,2	5,6	—	10
—	77,5	11,6	—	23,4	18,1	—	36,6	—	—	—
—	64,9	12,3	—	24,0	18,8	—	36,4	—	—	—
—	126,4	—	—	—	21,9	—	45,6	—	—	—
—	18,1	—	—	—	30,0	—	58,6	5,2	—	9
—	21,0	22,7	—	46,4	—	—	—	—	—	—

*a convenzionale su 100.000 abitanti**

I N C I E										
E D I A		G U A N A C A S T E			P U N T A R E N A S			L I M O N		
Donne	Uomini	Ambi sessi	Donne	Uomini	Ambi sessi	Uomini	Donne	Ambi sessi	Uomini	Donne
—	4	4	1	3	2	—	2	7	1	6
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	2	—	—	—	1	—	1	2	1	1
—	—	2	1	1	—	—	—	3	—	3
—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1
—	1	1	—	1	1	—	1	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1
—	15,1	4,5	2,2	6,9	2,2	—	4,9	14,5	4,6	30,8
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	3,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	10,7	—	—	—	12,5	—	28,9	61,6	60,5	63,4
—	—	43,5	42,2	44,9	—	—	—	105,1	—	226,7
—	—	21,9	—	45,2	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	47,4	—	101,4
—	9,8	35,6	—	75,5	35,5	—	82,2	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	62,5	—	144,5

Gli altri 6 casi sono rappresentati dalle tiroiditi di Hashimoto e di Riedel con tre casi cadauna. In realtá non si tratta di veri tumori ma di quadri istologici cronici aspecifici,ció nonostante abbiamo creduto di considerarli come tali per la loro sintomatologia da gozzo con una lieve deviazione che puó far sospettare la esistenza di fatti infiammatori.

É noto (10) che la tiroidite linfatica di Hashimoto é una malattia che si riscontra esclusivamente in Inghilterra, in Nord America ed in Giappone e che secondo DE QUERVAIN (1) si presenta raramente in zone montagnose dove il gozzo é endemico. LEVITT (5) riferisce che la frequenza nei due sessi é di 4:1 per la tiroidite di Riedel e di 6:1 per la tiroidite di Hashimoto in favore del sesso femminile. Prima di considerare la nostra casistica vogliamo quí ricopiare i dati di LEVITT (5) riferentesi all' incidenza della tiroidite di Hashimoto e di Riedel, aggiungendovi quelli di LINDSAY e DAILEY (6) ed i nostri (quadro VIII).

Nel presente studio abbiamo incontrato su 903 tiroidectomie (benigni e maligni compresi) 3 casi di tiroidite di Hashimoto, pari al 0,33 per cento e 3 casi di tiroidite di Riedel, pari al 0,33 per cento. Si tratta unicamente di pazienti di sesso femminile che sono cosí distribuiti:

T. Hashimoto	2 di San José di 29 e 40 anni
	1 di Alajuela di 65 anni
T. Riedel	2 di San José di 25 e 50 anni
	1 di Guanacaste di 49 anni

In relazione a quanto affermato da vari AA. citati da LEVITT, a quanto lo stesso LEVITT (5) afferma ed ai nostri dati, dobbiamo fare le seguenti osservazioni e conclusioni:

a) se la tiroidite di Hashimoto é poco frequente in zone montagnose ed i casi del nostro studio si presentano nelle provincie di San José e di Alajuela, al di sopra degli 800 m. dal livello del mare, si tratta di una evenienza rara.

b) se la tiroidite di Hashimoto si presenta con raritá nelle zone dove il gozzo é endemico, dobbiamo pensare che l'aver incontrato i nostri casi in una zona che noi consideriamo endemica per il gozzo non é in antitesi con quanto affermano LEVITT e gli altri AA. (5). Infatti noi crediamo che il gozzo sia endemico in Costa Rica, ma che non si presenta con il medesimo quadro clinico del classico cretinismo endemico, se no che la sua forma sia larvata, ragione per cui della possibile coesistenza della tiroidite di Hashimoto; inoltre se noi osserviamo i dati di LEVITT la nostra serie si trova fra quelle di minor incidenza.

c) se confrontiamo le differenti percentuali d'incidenza della tiroidite di Riedel, si nota che la nostra serie occupa col 0,33 per cento il secondo posto.

d) tutti i nostri casi affettano solo il sesso femminile.

QUADRO VIII

Incidenza della tiroidite di Hashimoto e di Riedel nei diversi autori (LEVITT (5)), *modificata.*

Autori	Anno di pubblicazione	Numero delle tiroidectomie	Numero dei Casi	
			Cifre assolute	%
TIROIDITE DI HASHIMOTO				
GRAN BRETAGNA				
Renton *et al.*	1938	418	7	1,7
Keynes	1939	1.600	25	1,6
Levitt	1951	2.114	30	1,4
Graham	1939	670	6	0,9
Joll	1939	5.650	51	0,9
STATI UNITI N.A.				
Lindsay e Dailey	1954	7.263	220	3,0
Mc Swain e Moore	1943	1.909	15	0,8
Ficarra	1946	1.938	9	0,5
Crile	1948	900	3	0,3
Marshall *et al.*	1948	25.000	78	0,3
Lee	1935	1.800	3	0,2
COSTA RICA				
Nostra serie	*1954*	*903*	*3*	*0,33*
TIROIDITE DI RIEDEL				
Joll	1939	2.000	8	0,40
Nostra serie	*1954*	*903*	*3*	*0,33*
Graham	1939	670	2	0,30
Pemberton	1923	12.219	34	0,28
Riedel	1910	1.064	3	0,28
Frazer	1936	1.551	4	0,26
Levitt	1951	2.114	5	0,24
Eisen	1934	2.908	7	0,24
Scholoffer	1909	450	1	0,22
Berry	1921	500	1	0,20
Graham	1940	17.826	27	0,15
Eberts *et al.*	1929	2.000	1	0,05
Enderlen	1929	3.396	1	0,03
Lindsay e Dailey	1954	7.263	2	0,027

e) le pazienti del presente studio di tiroidite di Hashimoto e di Riedel sono ugualmente distribuite per etá, ragione per cui non possiamo considerare como l'una (Hashimoto), la fase precursora dell'altra (Riedel), se no che si tratta di due quadri paralleli.

f) per la prima volta si pubblica la presenza di casi di tiroidite di Hashimoto e di Riedel in zona tropicale con una incidenza rimarchevole specie per la seconda.

TUMORI MALIGNI

Le neoplasie maligne della tiroide sono fra quelle che, a secondo delle ultime statistiche, stanno aumentando in maggiori proporzioni. Considerando il gran numero di tumori benigni della tiroide che ci sono in Costa Rica, non possiamo affermare che l'adenoma della tiroide abbia influenza sulla incidenza della malignitá, questo per rispondere al parragrafo 7) dello schema di STANBURY (9). Infatti se confrontiamo i nostri dati con quelli di IRIONDO *et al.* (3) in Cuba, vediamo come loro su 23.309 biopsie incontrarono 118 casi di tumori della tiroide dei quali 63 (55,39 %) benigni e 55 (46,61 %) maligni. Ugualmente PARSONNET (7) su 74 tiroidectomie personali presenta 64 (86,49 %) lesioni benigne e 10 (13,51 %) neoplasie maligne. La nostra serie presenta nel venticinquennio 1928-53, durante il quale furono fatte 36.347 biopsie, tiroidectomie 903 (2,42 % del totale) delle quali 874 (96,79 %) benigne e 29 (3,21 %) maligne. Con questi risultati possiamo fin da ora credere che non ci sia relazione fra adenomi colloidi e tumori maligni della tiroide. Come si vedrá piú avanti, non possiamo affermare la medesima cosa per l'adenoma tireotossico ed i tumori maligni.

Tutti i casi del nostro studio furono raggruppati nel quadro IX. Si é dovuto tralasciare lo studio della loro evoluzione, ripromettendoci di farlo in un prossimo futuro, in quanto é trascorso poco tempo, per lo meno per la maggior parte dei casi, dal periodo che sono in osservazione. Possiamo peró fin da ora prendere in studio il caso Nº 29 che nel quadro IX sta con diagnostico di *adenoma tireotossico.* Si tratta di una ragazza H. V. V. che nel 1951, quando si presentó al primo esame clinico aveva 24 anni. In quel tempo fu tiroidectomizzata ed il risultato istopatologico fu di adenoma tireotossico (Biopsia Nº 23860 interpretata da uno di noi M. F.). La paziente si presentó alla Clinica dei Tumori il 26 di febbraio del 1953 dove se le diagnosticó: "Carcinoma della tiroide con metastasi cervicali". Una radiografia eseguita alcuni mesi dopo, 17 ottobre 1953, riporta "Metastasi miliari in entrambi i campi polmonari con grosse masse mediastinali. Dr. J. Cabezas". In questo caso possiamo supporre che si é trattato di un adenoma tireotossico primitivo che degeneró secondariamente. Benché non ci sia la biopsia, abbiamo compreso questo caso, per il suo quadro clinico-radiologico, fra i tumori maligni.

Considerando il quadro IX, osserviamo che nella colonna "Data della biopsia" nei primi anni il numero dei casi é minimo. Dal 1949 tutti gli anni pre-

CUADRO IX

Lista individuale della nostra casistica dei tumori maligni della tiroide

Numero	Numero della biopsia	Data della biopsia	Nome e Cognome (iniziali)	Sesso ed età		Località	Diagnosi istologica
				Uomini	Donne		
1	67	21-VI -28	C. L.	64	—	San Rafael - Heredia	Carcinoma solido
2	1.697	2-XI -33	E. A.	—	84	Turrúcares	Adenoma maligno
3	2.417	6-XI -34	C. S.	64	—	Cartago	Adenoma papillare maligno
4	4.885	20-VI -38	A. G.	—	20	San José	Epitelioma trabecolare
5	5.032	8-IX -38	R. V. V.	—	24	San José	Epitelioma
6	6.399	18-IX -40	J. M.	—	63	Atenas	Adenocarcinoma
7	7.263	9-III -42	R. F.	48	—	San José	Carcinoma
8	8.164	27-X -43	J. V. M.	—	55	Naranjo	Sarcoma fusocellulare
9	8.552	18-II -44	C. E.	19	—	Potrerillo - San José	Carcinoma a piccole cellule
10	9.560	28-XII -44	C. M.	40	—	Colorado - Limón	Carcinoma
11	14.120	16-IX -47	N. P.	—	68	Aserrí	Carcinoma
12	18.217	26-VII -49	J. V. R.	33	—	Tres Ríos	Carcinoma
13	18.634	14-IX -49	L. L. S.	—	32	Heredia	Carcinoma
14	19.574	21-I -50	A. R.	—	58	Esparta	Adenocarcinoma
15	20.785	27-VI -50	J. I. R.	34	—	San Carlos	Carcinoma
16	22.195	27-X -50	H. A.	—	16	Naranjo	Cistoadenocarcinoma
17	24.882	6-VII -51	V. J.	—	40	Puntarenas	Carcinoma
18	25.443	23-VII -51	D. S.	—	52	San José	Carcinoma a grandi cellule
19	25.630	8-IX -51	M. S.	—	58	San José	Carcinoma
20	28.260	29-VI -52	A. R.	—	58	Puntarenas	Adenocarcinoma
21	28.633	22-VII -52	O. Z.	—	39	Desamparados	Carcinoma
22	31.276	6-II -5c	C. M.	30	—	Desamparados	Carcinoma
23	31.507	25-II -53	N. B.	71	—	Abangares	Carcinoma
24	31.544	28-II -53	P. A.	—	47	Guanacaste	Carcinoma
25	31.841	26-III -53	C. C.	59	—	San Isidro - Coronado	Carcinoma
26	32.398	23-V -53	R. S.	—	40	Aserrí	Carcinoma
27	33.336	14-VIII -53	A. N.	—	60	Alajuela	Carcinoma
28	33.404	19-VIII -53	R. R.	—	18	Santa Ana	Adenocarcinoma
29	*23.860*	*17-IV -51*	*A. V. V.*	—	*24*	*Lourdes - Montes de Oca*	*Adenoma tireotossico*

sentano una serie di pazienti che é di: 2 nel 1949, 3 nel 1950, 3 nel 1951, 2 nel 1952, 7 nel 1953 piú quello dell'adenoma tireotossico degenerato. Come si vede c'é un aumento decisivo di casi a partire dal 1953.

Il quadro X presenta i pazienti di tumore maligno della tiroide in Costa Rica, distribuiti per sesso e per provincie, con la rispettiva frequenza convenzionale. L'ordine progressivo della provincia in ragione della frequenza convenzionale é: Cartago, Guanacaste, Puntarenas, Limón, Heredia, San José ed Alajuela. Possiamo affermare che non esiste relazione fra questa distribuzione geografica e quelle anteriormente descritte per l'adenoma colloide e per il morbo di Basedow.

CUADRO X

*Distribuzione geografica dei tumori maligni della tiroide per provincia e sesso con frequenza convenzionale su 100.000 abitanti**

PROVINCIE	NUMERO DEI CASI			FREQUENZA CONVENZIONALE SU 100.000 ABITANTI*		
	Ambi sessi	Uomini	Donne	Ambi sessi	Uomini	Donne
Di tutto il paese	29	10	19	3,6	2,4	4,8
San José	13	4	8	4,2	2,9	5,4
Alajuela	7	1	6	4,7	1,3	8,0
Cartago	2	2	—	1,9	3,9	—
Heredia	2	1	1	3,8	3,9	3,7
Guanacaste	2	1	1	2,2	2,2	2,3
Puntarenas	2	—	2	2,2	—	4,8
Limón	1	1	—	2,4	4,5	—

* Vedi avvertenza pag. 2

È interessante notare che i tumori maligni della tiroide sono maggiormente frequenti nella donna che nell'uomo anche da noi (rapporto 2:1 in favore del sesso famminile) ció nonostante siamo d'accordo con Parsonnet (7) nell'affermare che dato un ugual numero di casi in ambi i sessi, esiste maggior tendenza alla malignitá nell'uomo. Infatti se noi facciamo un rapporto fra gli 80 tumori benigni ed i 10 maligni nel sesso maschile con i 794 benigni ed i 19 maligni nel sesso femminile, risulta che nell'uomo abbiamo 1 caso maligno ogni 10 benigni, mentre nella donna abbiamo 1 caso maligno ogni 41 benigni. In altre parole se noi avessimo 794 casi di tumori benigni nell'uomo cosí come nella

donna, il numero di maligni corrispondenti sarebbe di 99 casi, cioé cinque volte piú frequente di quello che noi abbiamo ottenuto per il sesso femminile (19 casi).

Nel quadro XI abbiamo distribuito i pazienti in gruppi di etá e per sesso con le rispettive frequenze convenzionali. L'etá oscilla fra i 15 e gli 84 anni, osservandosi irregolaritá di frequenza nei diversi gruppi di etá. Le piú alte frequenze si hanno fra i 55-59 anni nel sesso femminile e dopo i 60 anni nel sesso maschile

QUADRO XI

*Distribuzione dei tumori maligni della tiroide per sesso e per etá con frequenza convenzionale su 100.000 abitanti**

GRUPPI DI ETÃ	NUMERO DEI CASI			FREQUENZA CONVENZIONALE SU 100.000 ABITANTI*		
	Ambi sessi	Uomini	Donne	Ambi sessi	Uomini	Donne
Di tutte le etá	29	10	19	3,6	2,4	4,8
Da 15 a 19 anni	3	1	2	3,5	2,4	4.6
" 20 a 24 "	3	—	3	2,6	—	5,0
" 25 a 29 "	—	—	—	—	—	—
" 30 a 34 "	4	3	1	8,4	12,5	4,2
" 35 a 39 "	1	—	1	2,1	—	4,2
" 40 a 44 "	3	1	2	8,5	5,4	11,0
" 45 a 49 "	2	1	1	7,1	7,1	7,1
" 50 a 54 "	1	—	1	4,1	—	8,4
" 55 a 59 "	5	1	4	31,8	12,8	51,1
" 60 a 64 "	4	2	2	26,8	26,0	27,5
" 65 a 69 "	1	—	1	10,9	—	22,6
" 70 a 74 "	1	1	—	15,2	30,0	—
" 75 a 79 "	—	—	—	—	—	—
" 80 a 84 "	1	—	1	45.0	—	87,1

* Vedi avvertenza pag. 2

La distribuzione dei casi secondo la diagnosi istopatologica é la seguente (quadro XII).

QUADRO XII

Distribuzione numerica e percentuale dei tumori maligni per sesso secondo la diagnosi istologica.

TIPO ISTOLOGICO	NUMERO DEI CASI					
	Ambi sessi		Maschili		Feminili	
	Cifre assolute	%	Cifre assolute	%	Cifre assolute	%
Distribuzione numerica e percentuale per sesso secondo il tipo di tumore						
Totale	28	100,00	10	100,00	18	100,00
Carcinoma	18	64,29	9	90,00	9	50,00
Adenocarcinoma	5	17,86	—	—	5	27,77
Adenoma maligno ...	2	7.14	1	10,00	1	5,56
Sarcoma fusocellulare	1	3,57	—	—	1	5,56
Epitelioma	2	7,14	—	—	2	11,11
Distribuzione numerica e percentuale per tipo di tumore secondo il sesso						
Totale	28	100,00	10	35,72	18	64,28
Carcinoma	18	100,00	9	50,00	9	50,00
Adenocarcinoma	5	100,00	—	—	5	100,00
Adenoma maligno ...	2	100,00	1	50,00	1	50,00
Sarcoma fusocellulare	1	100,00	—	—	1	100,00
Epitelioma	2	100,00	—	—	2	100,00

Nel quadro XII abbiamo ommesso il caso 29 del quale, come anteriormente detto, non c'era un risultanto bioptico maligno se no semplicemente di adenoma tireotossico (17-4-1951).

Si puó notare nel quadro XII che la forma istologica predominante (18) é quella dei carcinomi il cui 50 per cento colpisce il sesso maschile. Quasi tutti i tumori maschili sono carcinomi (90 %).

In conclusione possiamo dire che:

a) il numero esiguo di tumori maligni della tiroide non puó far pensare al pericolo della degenerazione del gozzo colloide.

b) l'aumento del numero dei casi dal 1949 e specie nel 1953 si deve in parte al perfezionamento del diagnostico ed alla creazione del Dipartimento della lotta contro il cancro.

c) il sesso femminile é quello maggiormente colpito peró su un ugual numero di casi benigni in ambi i sessi, c'é un maggior numero di casi maligni nel sesso maschile.

d) i pazienti possono essere colpiti in qualsiasi etá.

e) prevale il tipo istologico carcinoma.

RIASSUNTO

Gli AA. fanno uno studio statistico delle biopsie (37.347) dell'Ospedale "San Juan de Dios" di San José di Costa Rica, durante il venticiquennio 1928-53. Risultano positive per tumori della tiroide 903 biopsie delle quali 874 (96,79 %) sono di lesioni benigne e 29 (3,21) maligne. Si considerano a parte i diversi tipi di tumori concludendo singolarmente:

a) Adenoma colloide: presenza di 760 casi, 72 (9,48%) maschili e 688 (90,52 %) femminili. Secondo la frequenza convenzionale la distribuzione progressiva dei casi per provincie é la seguente: Puntarenas, Cartago, Limón, Heredia, Guanacaste, Alajuela e San José. Le regioni del versante atlantico presentano un numero inferiore di casi di adenoma colloide; fa eccezione Puntarenas perché provincia costiera per eccellenza. Il rapporto fra frequenza femminile e maschile é di 10:1. Nel sesso femminile c'é una maggior incidenza nel gruppo di etá 40-55 anni. La mancanza di iodio nelle acque potabili, il tipo di alimentazione e forse la scarsa durezza delle acque potabili (74,86 p. p. m. media della Repubblica di Costa Rica), espressa come carbonato di calcio, sono considerati cause del gozzo endemico. Essendo sporadici i casi di cretinismo e sordomutismo tipici si deve pensare che esiste in Costa Rica una forma di gozzo endemico che non raggiunge uno statto tossico tale da dare i quadri clinici suddetti. A causa della temperatura (20°C. la media oltre gli 800 m e 26°C. la media nelle zone costiere) e dell'umiditá relativa (entroterra 78 %, coste fino al 90 %) si consiglia l'uso di sale iodato in una dose giornaliera di 0,1 mg. di iodio come fu proposto alla conferenza internazionale sul gozzo endemico di Londra.

b) Morbo di Basedow: presenza di 100 casi, 92 (92 %) femminili e 8 (8 %) maschili. Secondo la frequenza convenzionale la distribuzione progressiva per provincie é la seguente: Puntarenas, Guanacaste, Alajuela, Heredia, Cartago, Limón e San José. Le regioni del versante atlantico hanno una maggior incidenza, fa eccezione San José dove risiede la capitale e quindi la vita movimentata. Il rapporto fra frequenza femminile e maschile é di 11,5:1. I pazienti sono colpiti sopratutto nel periodo della attivitá sessuale. Il distiroidismo in Costa Rica non é molto frequente e gran parte dei suoi casi sono degli adenomi colloidi basedowificati.

c) Altri tumori benigni: si tratta di 8 casi di adenoma solido (0,91 %), di 3 casi di tiroidite di Hashimoto (0,34 %) e di tre casi di tiroidite di Riedel (0,34 %). Tutti i pazienti sono di sesso femminile. Sia i casi di tiroidite di Riedel che di Hashimoto sono ugualmente distribuiti per etá di modo che non si puó pensare che una sia la fase precursora dell'altra se no che si tratta di due quadri paralleli. Si confrontano i nostri dati con quelli anteriori e si conclude che la tiroidite di Hashimoto é poco frequente in Costa Rica mentre invece la tiroidite di Riedel é cosí frequente che la nostra serie presenta una incidenza tale da consideranci in secondo posto rispetto ai lavori anteriori considerati.

d) Tumori maligni: si presentano 29 casi di neoplasie maligne dalla tiroide pari al 3,21 per cento delle 903 tiroidectomie considerate. Il numero cosí esiguo di tumori maligni della tiroide non puó far pensare al pericolo della degenerazione del gozzo colloide. L'aumento dei casi negli ultimi anni si deve in parte al perfezionamento diagnostico nel nostro paese. Il sesso femminile é quello maggiormente colpito peró a paritá di casi benigni in ambi i sessi, c'e un maggior numero di casi maligni nel sesso maschile. I pazienti possono essere colpiti in qualsiasi etá. Prevale nella nostra serie il tipo istologico carcinoma.

RESUMEN

Los autores hacen un estudio estadístico de las biopsias positivas por tumores de la tiroides del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital San Juan de Dios de San José, Costa Rica, durante el período 1928-53. De las 37.347 biopsias examinadas 903 resultaron positivas por tumores de la tiroides, 874 (96,79 %) de las cuales son benignas y 29 (3,21 %) malignas. Por falta de datos anuales en el censo, todos los casos se refieren al censo de población del año 1950, pues es indispensable para el presente estudio relacionar los casos al número de habitantes, llamándose dicho índice "Frecuencia convencional".

Se han considerado por aparte los diferentes tipos de tumores:

a) Adenoma coloide: el número de casos considerados es de 760, de los cuales 72 (9,48 %) son de sexo masculino y 688 (90,52 %) femenino. Según la frecuencia convencional la distribución progresiva de los casos por Provincias es como sigue: Puntarenas, Cartago, Limón, Heredia, Guanacaste, Alajuela, San José. Exceptuando la provincia de Puntarenas, cuyos habitantes viven casi todos a la orilla del mar, las provincias de la vertiente atlántica son las que presentan menor número de casos de adenoma coloide. La relación de frecuencia entre mujeres y hombres es de 10:1. En el sexo femenino la incidencia más alta se encuentra entre los 40 y 55 años. Se considera como causa de bocio endémico en nuestro medio la falta de iodo

en las aguas potables, el género de alimentación y tal vez la escasa dureza de las aguas potables (74,86 p. p. m., media de la República de Costa Rica, expresada como carbonato de calcio). Los casos típicos de cretinismo y de sordomutismo son esporádicos en Costa Rica, por lo tanto los AA. creen que el bocio endémico no llega a un estado tóxico tal que permita dar los cuadros clínicos típicos. Debido a la temperatura (20°C. promedio de las regiones más altas de 800 m. y de 26°C. promedio de las regiones costeñas) y a la humedad relativa (interior 78 %, costas hasta 90 %) se aconseja el uso de sal iodada en dosis diarias de 0,1 mgr. de iodo como se convino en la Conferencia Internacional de Bocio Endémico en Londres.

b) Enfermedad de Basedow: el número de casos considerados es de 100, de los cuales 8 son masculinos y 92 femeninos. Según la frecuencia convencional la distribución progresiva de los casos por Provincias es como sigue: Puntarenas, Guanacaste, Alajuela, Heredia, Cartago, Limón y San José. Exceptuando San José, donde se encuentra la capital y donde la vida ofrece mayores preocupaciones, las regiones de la vertiente atlántica presentan mayor incidencia. El distiroidismo en Costa Rica no es muy frecuente y en la mayoría de los casos se trata de adenomas basedowificados. Las mujeres están más afectadas que los hombres, con una relación 11,5:1, tratándose sobre todo de pacientes en plena actividad sexual.

c) Otros tumores benignos: se encontraron 8 casos de adenoma sólido (0,91 %), 3 casos de tiroiditis de Hashimoto (0,34 %) y 3 casos de tiroiditis de Riedel (0,34 %). Todos estos pacientes son de sexo femenino. Los portadores de la tiroiditis de Riedel y de Hashimoto son igualmente distribuídos en los varios grupos de edades de manera que no podemos pensar que una sea la fase precursora de la otra si no que creemos que se trata de dos enfermedades que siguen su curso paralelamente. Comparando nuestros datos con los de AA. anteriores encontramos que la tiroiditis de Hashimoto en Costa Rica es poco frecuente mientras que nuestra incidencia por la tiroiditis de Riedel nos pone en segundo puesto entre las series estudiadas anteriormente.

d) Tumores malignos: se presentan 29 casos de neoplasias malignas de la tiroides con un porcentaje de 3,21 sobre las 903 tiroidectomías estudiadas. Siendo tan pequeña la incidencia de los tumores malignos de la tiroides en un país donde por el contrario es tan grande la incidencia de bocios coloides, se deduce que este último no puede influir sobre la malignidad. El aumento de los casos malignos en los últimos años se cree debido al perfeccionamiento diagnóstico en nuestro medio. El sexo femenino es mayormente afectado, pero proporcionalmente al mismo número de casos benignos hay mayor tendencia a la malignidad en el sexo masculino. Los pacientes pueden enfermarse en las diferentes edades y el tipo histológico que prevalece en nuestro estudio es el de carcinoma.

SUMMARY

A statistical study is presented of biopsies positive for thyroid tumors in the Department of Pathology of Hospital San Juan de Dios, San Jose, Costa Rica, during the period 1928-1953. Out of 37,347 biopsies, 903 were positive for thyroid tumor, of which 874 (96.79 %) were benign and 29 (3.21 %) were malignant. Because of lack of yearly census data, all cases are referred to the 1950 census (it being necessary for our study to relate the number of cases to the total population) and this ratio is called the "conventional frequency". The various types of tumors are considered separately, including:

a) Colloid adenoma. The number of cases considered is 760, of which 72 (9.48 %) occurred in males and 688 (90.52 %) in females. The progressive distribution, by provinces, as shown by the conventional frequency, is as follows: Puntarenas, Cartago, Limon, Heredia, Guanacaste, Alajuela, San José. The least number of cases of colloid adenoma is found in Puntarenas most of whose inhabitants live by the sea, and in the two provinces on the Atlantic watershed. The ratio of women to men among patients is as 10:1. The lack of iodine in drinking water, the usual type of diet, and perhaps the scanty hardness of drinking water (mean for the Republic, 74,86 p. p. m., expressed as calcium carbonate) are considered the causes for endemic goiter in this country. Typical cases of cretinism and deaf-mutism are sporadic in Costa Rica; the authors therefore believe our endemic goiter does not reach a toxic state sufficient to produce typical clinical pictures. Considering the mean temperature (20°C. for regions above 800 m., and 26°C. for coastal lowlands) and the mean relative humidity (interior, 78 %; coastal regions, up to 90 %) the use of iodized salt is recommended in daily doses of 0.1 mg. of iodine, as approved by the International Conference for Endemic Goiter in London.

b) Basedow's disease. The number of cases considered is 100, of which 92 were in females and 8 in males. The progressive distribution by provinces. as shown by the conventional frequency, is the following: Puntarenas, Guanacaste, Alajuela, Heredia, Cartago, Limon, San Jose. The highest incidence is in San Jose, where the capital is situated and life offers greater complexities, and in the Atlantic provinces. Dysthyroidism is not very frequent in Costa Rica, and most cases are basedowified colloid adenomas. Women are more frequently affected than men, in a ratio of 11.5:1, and most cases were patients in full sexual activity.

c) Other benign tumors. There were 8 cases of solid adenoma (0.91 %), 3 ceses of Hashimoto's thyroiditis (0.34 %) and 3 cases of Riedel's thyroiditis (0.34 %). All these patients were females. Patients with Hashimoto's and Riedel's thyroiditis are equally distributed through the various age groups, so that neither may be held to be a precursory stage of the other, but rather they must be considered as distinct diseases following parallel courses. In

comparison with other published data, Hashimoto's thyroiditis is seen to be relatively rare in Costa Rica, while the incidence of Riedel's thyroiditis places us in second place among previously studied series.

d) Malignant tumors. There were 29 cases of malignant neoplasy of the thyroid, or 3,21 per cent of the total of 903 thyroidectomies considered. Such a small incidence of malignant tumors in a country where there is such a high incidence of colloid goiter indicates that the latter can not be related to malignancy. The increase in the number of cases in recent years is thought to reflect the improvement in local diagnostic facilities. The female sex is more frequently affected; but proportionally to the number of benign cases in either sex, there is a greater tendency to malignancy among males. Patients were of all age groups. The histological type prevailing in our study was that of carcinoma.

BIBLIOGRAFIA

1. DE QUERVAIN, F. e G. GIORDANENGO
 1936. Mitt. Grenzgeb. *Med. Chir.* 44, 538. Cit in LEVITT, (5).

2. DIRECCIÓN GENERAL DE ESTADÍSTICA Y CENSOS
 1950. *Censo de población de Costa Rica.* V+237 pp. U. S. Government Printing Office. Washington.

3. IRIONDO, M., ORIONDO, H. e J. M. DEL PINO
 1953. Afecciones malignas del tiroides. *Bol. Liga Cáncer* 28(4):92-96.

4. JIMÉNEZ, R.
 1941. La alimentación de nuestros campesinos. *Salud* IV (7-8-9):16-47.

5. LEVITT, T.
 1952. The status of lymphadenoid goitre Hashimoto's and Riedel's disease. *Ann. roy. Surg. Engl.* 10:369-404.

6. LINDSAY, S. e M. E. DAILEY
 1954. Granulomatous or giant cell thyroiditis. *Surg. Gynec. & Obst.* 98(2):197-212.

7. PARSONNET, E. V.
 1949. *Carcinoma del tiroides.* Trabajos del III Congreso Nacional de Cancerología. XXXII+626 pp. Cultural, S. A. La Habana.

8. PICADO, C.
 1943. *Investigaciones sobre fisiopatología tiróidea.* 92 pp. Publicaciones de la Secretaría de Salubridad Pública. San José, Costa Rica.

9. STANBURY, J. B.
 1953. La conferénce internationale sur le goitre endémique. *Sem. méd.* 29(16): 245-248. (Supplement a la *Sem. Hôp. Paris.* Nº 32, 1953).

10. UFFREDUZZI, O.
 1941. *Trattato di patologia chirurgica.* 3ª ed., Vol. II, XVI+1193 pp. 24 tav. col., 634 figs. Unione tipografico. Editrice Torinese. Torino.

11. VIQUEZ, J. L.
 1953. Determinación de yodo en las principales aguas potables de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 1(2):235-237.

Rev. Biol. Trop. 2(1):29-36

Parásitos intestinales en niños

Estudio comparativo de los métodos diagnósticos usados

por

Armando Ruiz* y Cecilia Lizano**

(Recibido para su publicación el 9 de Julio, 1954)

Siendo la parasitología una de las disciplinas científicas de mayor importancia en nuestro medio y siendo el parasitismo intestinal uno de los mayores problemas sociales, creímos de sumo interés hacer un estudio coproparasitológico lo más cuidadosamente posible sobre 200 niños internados en la Sección de Pedriatría del Hospital San Juan de Dios. Si bien es cierto que ya se conocían datos sobre la incidencia de los parásitos intestinales en nuestra población infantil, son en todo caso porcentajes mínimos, pues en los estudios realizados hasta ahora sólo se ha empleado el examen directo a fresco. Por esta razón, y para acercarnos más a la verdadera incidencia, optamos por emplear, además del examen directo, la concentración de heces según técnica de Faust y la coloración por la hematoxilina de Mallory, lo que, al mismo tiempo, nos permitió comparar la bondad de los diferentes métodos.

Los resultados obtenidos satisfacen nuestro propósito y aportan un dato más al conocimiento de nuestra parasitología.

MATERIAL Y METODOS

Se examinaron 200 niños de ambos sexos, con edades comprendidas entre los tres y trece años exclusive y procedentes de muy diversas partes del país, pero principalmente de la Provincia de San José. Todos estos niños estaban internados en los Servicios de medicna general, salones Llorente y Calderón Muñoz, o en el Servicio de cirugía y especialidades afines, Sala Facio, de la Sección de Pediatría del Hospital San Juan de Dios.

* Sección de Parasitología, Facultad de Ciencias, Universidad de Costa Rica y División de Parasitología, Laboratorio Bacteriológico, Hospital San Juan de Dios.
** División de Pediatría, Laboratorio Bacteriológico, Hospital San Juan de Dios.

A cada niño se le practicó un solo examen de heces, procediéndose con cada muestra de la manera siguiente: a) un examen directo a fresco de una preparación montada en solución salina fisiológica; b) un examen directo de una preparación montada en solución de eosina al 1 %; c) un examen directo de una preparación montada en solución de Lugol en los casos en que hubo necesidad de identifcar quistes; ch) un examen de una preparación montada en solución de Lugol proveniente de la concentración de aproximadamente un gramo de heces según técnica de FAUST (1); d) un examen de cuatro preparaciones fijadas en solución de Schaudinn y coloreadas por la hematoxilina de MALLORY (3), que tiene la ventaja de no necesitar diferenciación y de dar excelentes coloraciones de los trofozoitos y quistes de flagelados. Las formas vegetativas y quísticas de amebas se colorean bastante bien, permitiendo hacer fácilmente su diferenciación. Las láminas se dejaron en el fijador por tres horas y luego se pasaron a alcohol de 70 % donde permanecieron 24 horas. En la hematoxilina se dejaron durante 18 horas. Aunque el método ocupa bastante tiempo lo preferimos por dar muy buenos resultados, por no tener necesidad de diferenciar y por acomodarse perfectamente al sistema de trabajo que seguíamos.

Conforme las muestras de heces llegaban al laboratorio, se procedía de inmediato a realizar los exámenes directos y la fijación húmeda en la solución de Schaudinn, dejándose de último la concentración. Para los exámenes directos y la concentración se usaron cubreobjetos de 18 x 18 mm; para las preparaciones fijas se emplearon cubreobjetos de 22 x 22 mm.

RESULTADOS OBTENIDOS

Entre los doscientos casos estudiados se encontró únicamente dos negativos, habiendo por lo tanto 99 por ciento de casos positivos para uno o más parásitos. Anteriormente LIZANO y DE ABATE (4) en niños de esos mismos Servicios encontraron 92,47 por ciento de casos positivos, observando solamente dos preparaciones entre porta y cubreobjetos de 18 x 18 mm adicionadas de solución salina fisiológica.

El examen directo a fresco, observando dos preparaciones, nos proporcionó datos bastante altos especialmente en las helmintiasis, ya que para los helmintos más frecuentes en nuestro medio, como son el *Trichuris trichiura, Ascaris lumbricoides* y *Necator americanus-Ancylostoma duadenale,* obtuvimos porcentajes de 86.5, de 62 y de 48 respectivamente. En cuanto al *Enterobius vermicularis* no encontramos ningún caso al examen directo, lo que prueba una vez más que éste no es el método apropiado para la búsqueda de los huevos de dicho nemátodo. Entre los céstodos, no tuvimos oportunidad de observar las especies de *Tænia* ni la *Hymenolepis diminuta,* que son poco comunes en nuestro medio, siendo que la *Hymenolepis nana* sí es más frecuente, encontrándose al examen directo en un 6 por ciento.

El uso de preparaciones a fresco montadas en solución salina normal y preferentemente en solución de eosina al 1 por ciento, facilita mucho el hallazgo de trofozoitos y especialmente de quistes de protozoarios. Esto explica la mayor

CUADRO I

Incidencia de los diversos helmintos y protozoarios según el método empleado

(200 niños examinados)

PARASITOS	TOTALES		Examen directo en sol. salina y en sol. de eosina al 1 %		Concentración según el método de Faust		Hematoxilina de Mallory	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Ancylostoma duodanale o Necator americanus	103	51,5	96	48,0	100	50,0	65	32,5
Ascaris lumbricoides	131	65,5	124	62,0	127	63,5	111	55,5
Trichuris trichiura	180	90,0	173	86,5	167	83,5	158	79,0
Strongyloides stercoralis	33	16,5	31	15,5	9	4,5	15	7,5
Enterobius vermicularis...	1	0,5	0	0,0	1	0,5	0	0,0
Tænia sp.	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Hymenolepis nana	14	7,0	12	6,0	14	7,0	12	6,0
Hymenolepis diminuta	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Endamœba histolytica	32	16,0	5	2,5	14	7,0	28	14,0
Endamœba coli	102	51,0	71	35,5	93	46,5	68	34,0
Iodamœba bütschlii	10	5,0	3	1,5	8	4,0	8	4,0
Trichomonas hominis	35	17,5	34	17,0	—	—	30	15,0
Giardia lamblia	37	18,5	24	12,0	26	13,0	30	15,0
Chilomastix mesnili...	41	20,5	22	11,0	20	10,0	36	18,0
Enteromonas hominis...	18	9,0	18	9,0	—	—	16	8,0
Endolimax nana	18	9,0	0	0,0	0	0,0	18	9,0
Balantidium coli	4	2,0	4	2,0	0	0,0	2	1,0
Blatocystis hominis	86	43,0	23	11,5	—	—	86	43,0

incidencia que hemos encontrado en las diversas protozoosis en comparación con los datos obtenidos en encuestas anteriores (4) en que no se usó solución de eosina sino únicamente solución salina.

Al examen directo se observó porcentajes ligeramente más altos para *Endamœba coli, Trichomonas hominis, Enteromonas hominis* y *Balantidium coli,* en comparación con los obtenidos en las láminas respectivas coloreadas con hematoxilina.

En el caso de la *Endamœba histolytica* no se notó aumento alguno al examen directo en comparación con los resultados obtenidos anteriormente por LIZANO y DE ABATE (4) en condiciones parecidas. El método empleado por nosotros no ofrece inconvenientes para el diagnóstico de los trofozoitos de *Endamœba histolytica* pero nos ayuda relativamente poco en el reconocimiento de las formas quísticas pequeñas de este parásito, las cuales sí son fácilmente reconocibles cuando se les colorea por la hematoxilina.

El empleo de la concentración según técnica de Faust en las mismas muestras que usamos para las preparaciones a fresco, no nos proporcionó ninguna ventaja con respecto al examen directo en el caso de las helmintiasis, mientras que, entre los protozoarios, encontramos un aumento apreciable para la *Endamœba histolytica, Iodamœba bütschlii* y muy especialmente para la *Endamœba coli.* Ligero aumento se observó para la *Giardia lamblia.*

La observación de cuatro preparaciones coloreadas por la hematoxilina, en lo que se refiere al aspecto helmintológico, no da resultados que aventajen el examen directo o la concentración, como puede apreciarse en el Cuadro I. Por el contrario, entre los protozoarios se observa un aumento considerable para la *Endamœba histolytica, Endolimax nana* y *Chilomastix mesnili,* con respecto al examen directo. La *Iodamœba bütschlii* y la *Giardia lamblia* presentaron un ligero aumento, en cuanto que para la *Endamœba coli, Trichomonas hominis, Enteromonas hominis* y *Balantidium coli* se obtuvieron resultados ligeramente inferiores a los obtenidos en las preparaciones a fresco.

La *Endolimax nana* no se reportó ninguna vez al examen directo, siendo que en la hematoxilina se encontró en un 9 por ciento. El motivo probable de esta diferencia puede atribuirse tal vez al tamaño de sus trofozoitos y quistes y, principalmente, a que las muestras llegan al Laboratorio algún tiempo después de la defecación, tiempo suficiente a veces para que los trofozoitos se inactiven.

En el caso de la *Endamœba histolytica* el aumento apreciable que se observa es debido a las pequeñas formas, especialmente quistes, encontradas en las preparaciones coloreadas por la hematoxilina, y que son difíciles de hallar y de identificar al examen directo. Muchas veces es posible observar, tanto en preparaciones directas como provenientes de concentración, formas quísticas tales, que aun coloreadas con solución de Lugol no permiten hacer con certeza su identificación, necesitándose entonces recurrir a la hematoxilina, la cual, si se tiene conocimiento y práctica suficientes, puede llevarnos la mayoría de las veces al diagnóstico exacto. Debemos recordar aquí, como bien dicen CRAIG y FAUST (2), que el diagnóstico diferencial de las amebas parásitas constituye la tarea más difícil de la parasitología clínica.

CUADRO II

Protozoosis simples y combinadas

	Datos obtenidos (%) por LIZANO y DE ABATE (4). Unicamente examen directo.	Datos obtenidos (%) mediante examen directo, concentración y col. por hematoxilina.
Total de positivos...	34,68	71,00
1 protozoario	25,81	31,00
2 protozoarios	5,51	22,00
3 protozoarios	2,14	12,00
4 protozoarios	1,03	4,50
5 protozoarios	0,15	2,00
6 protozoarios	0,04	1,00
7 protozoarios	0,00	0,50

CUADRO III

Helmintiasis simples y combinadas

	Datos obtenidos (%) por LIZANO y DE ABATE (4). Unicamente examen directo.	Datos obtenidos (%) mediante examen directo, concentración y col. por hematoxilina.
Total de positivos...	89,95	97,00
1 helminto	33,65	18,00
2 helmintos	36,91	40,00
3 helmintos	16,93	28,00
4 helmintos	2,46	10,50
5 helmintos	0,00	1,00

La primer columna del Cuadro I representa los totales máximos de parasitismo hallados en este estudio, ya que constituye la suma de los datos obtenidos mediante los tres métodos. Realmente ahí se aprecia la importancia que tiene el usar tres distintos exámenes, al considerar la diferencia que existe entre los máximos obtenidos de la suma de los diferentes métodos y los máximos obtenidos usando cada método por separado.

Entre los helmintos encontramos datos sumamente altos como es el caso del *Trichuris trichiura* con 90 por ciento, siendo éste el nemátodo más frecuente en nuestro medio como puede apreciarse también en estadísticas anteriores (4) (5). En segundo lugar se encuentra el *Ascaris lumbricoides* con 65,5 por ciento, estando en tercer lugar el *Necator americanus-Ancylostoma duodenale* con un 51,5 por ciento. Entre los céstodos el más frecuente es la *Hymenolepis nana* (7 %).

Entre los protozoarios llama la atención el caso de la *Endamœba histolytica* que dió un total de 16 por ciento, siendo que en estudios anteriores este porcentaje fué bastante inferior ya que provenía únicamente de datos obtenidos al examen directo con suero fisiológico (4) o de examen directo más concentración (5), mientras que nosotros utilizamos además de esos métodos, la coloración con hematoxilina de cuatro láminas por muestra de heces. La *Endamœba coli* alcanzó un porcentaje de 51, siendo éste el porcentaje más alto obtenido entre los protozoarios. Le sigue *Chilomastix mesnili* con 20,5 por ciento, *Giardia lamblia* con 18,5 por ciento y *Trichomonas hominis* con un 17,5 por ciento. *Enteromonas hominis* y *Endolimax nana* se presentaron en un 9 por ciento. *Iodamœba bütschlii* y *Balantidium coli* fueron los menos frecuentes con un 5 y 2 por ciento respectivamente.

El uso de los tres diferentes métodos influye grandemente en el aumento de las parasitosis múltiples, como se puede apreciar en los Cuadros II y III en que se compara nuestros resultados con los obtenidos por LIZANO y DE ABATE usando un solo método.

En las protozoosis aumentó considerablemente el total de casos positivos, distribuyéndose dicho aumento entre las protozoosis simples y principalmente entre las combinadas, encontrándose aún un caso parasitado con siete especies de protozoarios. En el caso de las helmintiasis también se observa un ligero aumento en el total de casos positivos, habiendo una disminución notoria en las helmintiasis simples, pero aumentando las formas combinadas, debido no ya a la influencia de un método, sino al número total de preparaciones observadas.

RESUMEN

Se realizó un estudio coproparasitoscópico en 200 niños, usando métodos directos, concentración de Faust y tinción por la hematoxilina de Mallory, con el fin de encontrar datos más aproximados a la verdadera incidencia de parásitos intestinales en nuestra población infantil y al mismo tiempo comparar los resultados obtenidos en los diferentes métodos empleados.

Se encontró 99 por ciento de casos positivos, no habiendo influencia por

parte de la edad ni tampoco de la procedencia de los niños, pues, tanto los procedentes de zonas rurales como de zonas urbanas estaban igualmente parasitados.

El examen directo cuidadosamente realizado, tal como se practicó, da resultados bastante satisfactorios, atribuyéndosele gran valor al uso de la eosina en el hallazgo de protozoarios especialmente quistes. En el caso de los helmintos, los datos obtenidos al examen directo fueron muy ligeramente inferiores a los obtenidos mediante concentración, y aun en el caso del *Trichuris trichiura* fué mayor el porcentaje resultante del examen directo que el obtenido por concentración.

La concentración por flotación según el método de Faust nos proporcionó datos bastante más altos que los obtenidos a fresco en el caso de *Endamœba histolytica, E. coli* y *Iodamœba bütschlii.* En el caso de la *Giardia lamblia* se apreció un ligero aumento.

Las preparaciones coloreadas por la hematoxilina de Mallory no tienen ventaja alguna con respecto al examen directo en lo que a helmintos se refiere, pero ayudan enormemente al reconocimiento de los protozoarios y, en nuestro estudio, principalmente en el diagnóstico de *Endolimax nana* y *Endamœba histolytica.*

Cabe hacer notar aquí que si bien la concentración por el método de Faust ayuda en la búsqueda de los quistes de *Endamœba histolytica,* muchas veces no es posible identificar como quistes de esta ameba formas pequeñas que aun coloreadas por la solución de Lugol no permiten apreciar claramente su estructura interna, haciéndose necesario, por lo tanto, recurrir a la coloración por hematoxilina para llegar al diagnóstico correcto. De esta manera fué posible elevar hasta 14 el porcentaje de incidencia de esta ameba que había sido encontrada en 2,5 por ciento a fresco y 7 por ciento en la concentración.

SUMMARY

Microscopic examination of the feces of 200 children was carried out using direct examination, concentration and staining with Mallory's hematoxylin. The purpose of the study was to approach more closely the actual incidence of intestinal parasites in Costa Rican children, and at the same time, to compare the results obtained with the different methods used.

Positive results were found in 99 % of the samples. No correlation with age was found, nor with the location of children in rural or urban areas.

Careful examination of fresh material gave satisfactory results; the use of eosin was particularly valuable in the finding of protozoa, especially of cysts. In the case of worms, data obtained through direct examination were very slightly smaller than those obtained through concentration; and in the case of *Trichuris trichiura* the proportion was greater in direct examination than in concentration.

Concentration by Faust's flotation method yielded considerably higher data than direct examination in the case of *Endamœba histolytica, E. coli* and *Iodamœba bütschlii,* and slightly higher for *Giardia lamblia.*

Preparations stained with Mayllory's hematoxylin showed no advantage over fresh material with regard to worms, but proved exceedingly helpful in the identification of protozoa and, in our study, particularly of *Endolimax nana* and *Endamœba histolytica.*

It is worth stressing that, although concentration by Faust's method is helpful in the search for cysts of *Endamœba histolytica,* it is often impossible to identify as such small forms whose internal structure can not be clearly made out even when stained with Lugol's solution. It becomes necessary then, in order to arrive at the correct diagnosis, to stain with hematoxylin. By this means it was possible to raise to 14 % the incidence of this parasite, which had been found in 2.5 % of fresh samples and in 7 % of concentrated samples.

BIBLIOGRAFIA

1. CRAIG, C. F.

1948. *Laboratory Diagnosis of Protozoan Diseases.* 2ª ed. 348 pp. Lea & Febiger. Philadelphia.

2. CRAIG, C. F. & E. C. FAUST

1948. *Clinical Parasitology.* 4ª ed. 871 pp. Lea & Febiger. Philadelphia.

3. HOARE, C. A.

1949. *Handbook of Medical Protozoology* XV + 334 pp. Baillière, Tindall & Cox. London.

4. LIZANO, CECILIA & J. DE ABATE

1953. Incidencia de parásitos intestinales en los niños de la Sección de Pediatría del Hospital San Juan de Dios. *Rev. Biol. Trop.* 1(2):223-233.

5. RUIZ, A. & A. TREJOS

1953. Primeros casos costarricenses de isosporosis. *Rev. Biol. Trop.* 1(2):117-134.

Rev. Biol. Trop. 2(1):37-44

Filariasis en Puerto Limón, Costa Rica

por

Herbert Lieske *

(Recibido para su publicación el 28 de Enero de 1954)

Durante el tiempo que estuve en Costa Rica, aproximadamente un año, estudiando diversos aspectos de medicina tropical, tuve oportunidad de ocuparme de la filariasis, por espacio de un mes, en Puerto Limón.

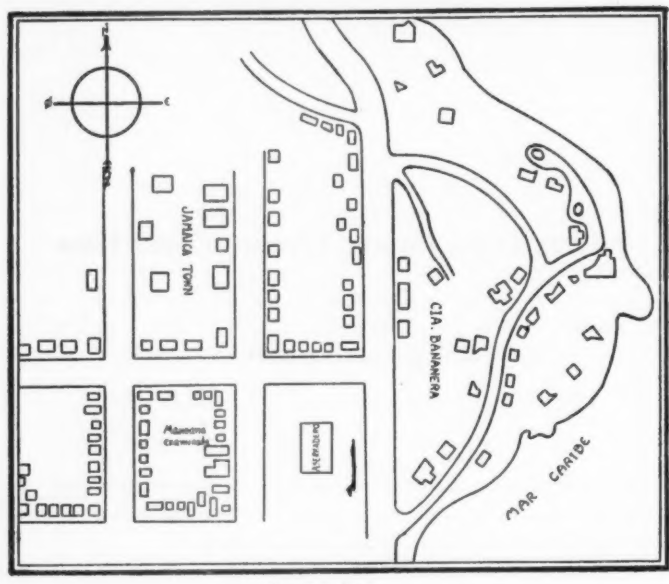
Mi trabajo consistió en repetir una pequeña parte de la encuesta realizada por BUTTS en el año 1946, ya que por razones técnicas y falta de tiempo, no pude repetir todo el "survey" ejecutado por BUTTS en el Puerto de Limón, en la zona del Hospital, Jamaicatown y Cieneguita, lo que indudablemente hubiera dado datos de valor en lo que se refiere al aumento o disminución del brote de filariasis en la población. Me limité pues a una parte de Jamaicatown. En esa zona examinó BUTTS cuatro manzanas con un total de 300 habitantes, tratándose casi exclusivamente de gente de color. De estas cuatro manzanas seleccioné sólo una que cuenta con 25 casas y que dió en 1946 una cifra de diez casas con casos positivos.

Se examinaron en total 137 personas. Para la búsqueda de las microfilarias se tomó la gota gruesa del dedo, entre las 22 horas y la una de la mañana. De estas 137 personas 35 eran blancas, siendo el resto gente de color.

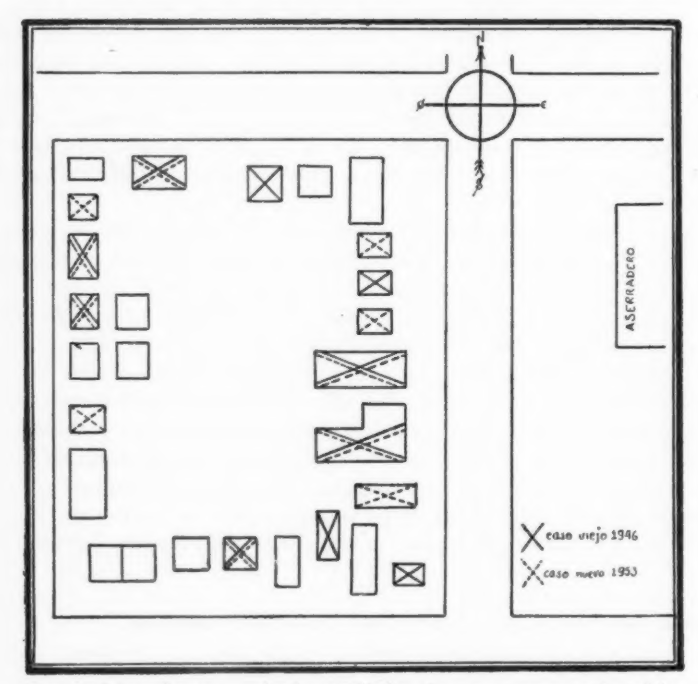
Se encontró 21 casos positivos, siendo que la cantidad de microfilarias en una gota de sangre (aproximadamente 20 mm^3 de sangre) fluctuaba entre 1 y 289 ejemplares. Unicamente se encontró microfilarias de *Wuchereria bancrofti.*

Entre estos 21 casos positivos solamente había un hombre blanco, los demás eran gente de color. El paciente más joven contaba 6 años y el mayor 74. Por lo general sólo se encontró un caso positivo entre los miembros de una familia numerosa, sin embargo en 4 familias hubo dos casos positivos y en una tres casos. Los 21 casos fueron de personas nativas de la zona o que hacía 20 años vivían en Limón. El vecino infectado más recientemente llegado, hacía

* Instituto Bernhard Nocht de Enfermedades Tropicales de Hamburgo.



Jamaica Town



Croquis del cuadrante examinado, señalándose los casos nuevos y los viejos.

cinco años que vivía en Limón. De estos últimos datos bien puede deducirse que la infección se efectúa muy probablemente, por no decir seguramente, en Limón mismo.

Molestias mayores o malestares como fiebre, cefaleas, tos crónica o vómitos se manifestaron solamente en pocas personas. Dichas molestias se presentaron casi siempre una vez, por cuyo motivo no juegan papel importante alguno. Un ligero edema de los maléolos existía solamente en un paciente, hipertrofia de los ganglios linfáticos en cinco. No se observaron casos de elefantiasis de las extremidades inferiores.

Diez de los veintiún casos positivos vivían en la misma casa desde hace varios años y fueron ya examinados por BUTTS, sin embargo ellos no podían aclarar si en aquel entonces ya poseían las microfilarias.

Del croquis hecho en aquella oportunidad por BUTTS, señalando casas positivas y negativas, puede inferirse que dos de nuestros pacientes ya vivían allí, siendo negativos en aquel entonces. Se trata por consiguiente de casos nuevos (Frote Nº 16 y Nº 120).

Es difícil, casi imposible, hacer una comparación con las cifras dadas por BUTTS, ya que la mayoría de los habitantes de la manzana examinada por nosotros llegaron, durante los últimos años, de otras regiones de Puerto Limón, otros en cambio se fueron del lugar. Del croquis de BUTTS se desprende que de las 25 casas examinadas, diez casas albergaban ya personas infectadas en 1946, en cuanto que ahora, en enero de 1953, se encontraron once casas infectadas. En cinco casas, que en aquel entonces eran negativas, había ahora infecciones nuevas, mientras que seis casas ya albergaban personas parasitadas desde hace tiempo atrás. Cuatro casas positivas cuando BUTTS hizo la encuesta, son ahora negativas, pues todos los habitantes se habían mudado durante los últimos años, de manera que los inquilinos actuales no fueron examinados anteriormente por BUTTS.

La investigación efectuada ahora en enero de 1953 con 15 % de casos positivos por microfilarias, no permite colocarla en relación directa con las investigaciones de BUTTS del año 1946. BUTTS examinó 84 casas con un total de 300 personas, obteniendo en Jamaicatown 40 % de casos positivos. En vista de que el número de personas examinadas por nosotros en 25 casas asciende casi a 140, bien podría ser que el número de personas encontradas actualmente en las 4 manzanas sobrepase considerablemente a 300.

Es muy dudoso que el número de casos de filariasis haya aminorado; esto se desprende de las dos nuevas infecciones encontradas en personas que BUTTS señaló como negativas. No se puede probar si la infección existía ya antes de la mudanza en los otros once casos positivos incluídos.

La distribución de los 21 casos positivos encontrados en enero de 1953 según la edad es como sigue:

1 — 10 años	3 casos	41 — 50 años	3 casos
11 — 20 "	2 "	51 — 60 "	3 "
21 — 30 "	8 "	61 — 70 "	0 "
31 — 40 "	1 "	71 — 80 "	1 "

El examen simultáneo de todos los 137 habitantes para investigar malaria resultó negativo, un resultado que en aquel entonces comunicó también BUTTS.

Finalmente es de advertir en este resumen que no tenemos la impresión de que haya disminuído la filariasis. Esto se comprende mejor si se considera que la mayoría de las personas filariósicas no sufren molestia alguna, desconocen casi siempre su latente enfermedad y por consiguiente no se someten a tratamiento médico. El tratamiento no es problema hoy día, pues en la mayoría de los casos se ha comprobado como muy eficaz el "hetrazán" (dietilcarbamine). Una dosis de 0,5 a 2 mgm por kg de peso 3 veces al día durante una semana hace desaparecer comúnmente las microfilarias por completo.

En un futuro muy próximo se proyecta agrandar el Puerto de Limón y se calcula para entonces un aumento de población. Para evitar una ulterior extensión de la filariosis parece conveniente, después de una explicación adecuada con la población, examinarla debidamente. Los casos positivos habría que tratarlos entonces, sin costo alguno para el enfermo, con fondos de Salubridad Pública.

Al mismo tiempo en que se realizaba la encuesta, se procedía en la misma manzana a capturar mosquitos, que juegan papel importante en la trasmisión de la enfermedad.

Para ello se valió de una trampa especial de techo de madera y paredes de cedazo del tipo común contra mosquitos (Fig. 1). Dicha trampa posee en las partes superiores soluciones de continuidad a través de las cuales los mosquitos u otros insectos penetran al interior, siéndoles luego imposible la salida. En el interior de la misma se hizo pernoctar un caballo con el fin de atraer a los hematófagos. A la mañana siguiente, es decir la mañana del 23 de enero, se capturaron las variedades de mosquitos que detallamos:

Culex fatigans	3 ejemplares
Culex sp.	2 "
Anopheles (*Nyssorhynchus*) *sp.*	1 "

En la mañana del 24 de enero capturamos:

Culex fatigans	10 ejemplares

Los mosquitos fueron clasificados por el Entomólogo Dr. Laven del Departamento de Entomología Médica del Instituto de Enfermedades Tropicales de Hamburgo.

En 1946 también BUTTS encontró en Jamaicatown especialmente *Culex fatigans,* uno de los trasmisores más importantes de la filariasis.

Además del tratamiento es recomendable una intensificación de la campaña contra los mosquitos hasta lograr su exterminación, previniendo así una posterior trasmisión de la filariasis.

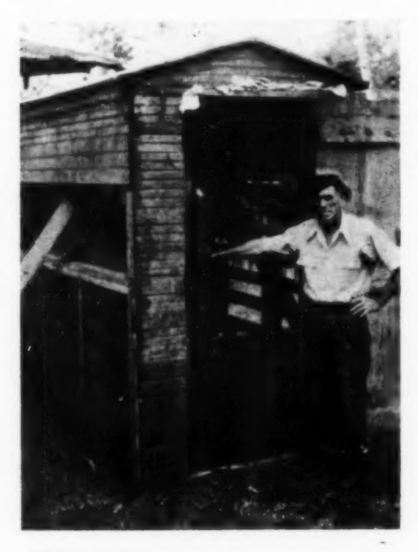
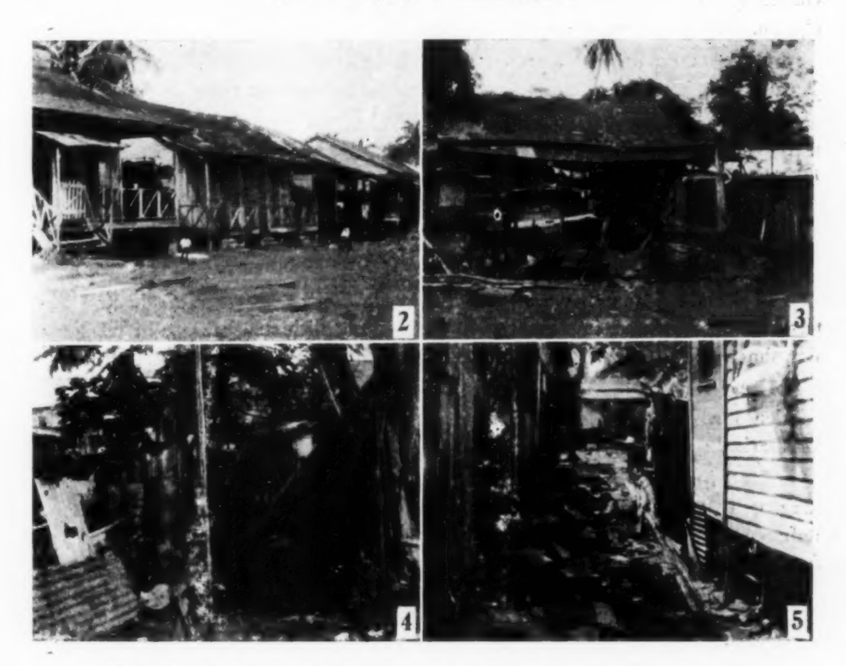


Fig. 1: Trampa para cazar mosquitos



Figs. 2 y 3: Aspecto de algunas de las casas del cuadrante examinado.

Figs. 4 y 5: Aspecto de los patios donde se capturaron mosquitos.

RECONOCIMIENTO

La ejecución de este trabajo me fué facilitada por los señores Dr. Antonio Facio, Superintendente de los Hospitales de la Compañía Bananera de Costa Rica y el Dr. Guido Casorla, Superintendente del Hospital de Limón; además me ayudaron activamente en mi trabajo el personal del laboratorio del Hospital de Limón y de Salubridad Pública. Para todos ellos mi reconocimiento más sincero.

RESUMEN

El autor realiza en 1953 una pequeña encuesta para investigar filariasis entre los habitantes, en su mayoría de color, de 25 casas situadas en una manzana de Jamaicatown, Puerto Limón, Costa Rica.

Entre las 137 personas examinadas se encontraron 21 casos positivos por microfilarias de *Wuchereria bancrofti*. El número de microfilarias encontradas en 20 mm³ de sangre oscilaba entre 1 y 289.

Cinco de los 21 pacientes mostraron una pequeña tumefacción de los ganglios linfáticos inguinales y un paciente presentaba un ligero edema del pie, en cuanto que el resto de las personas parasitadas no mostraron signo patológico alguno. No se encontró ningún caso con elefantiasis.

Comparando los datos presentes con los obtenidos en 1946 por BUTTS en Jamaicatown, se observa que no ha disminuído la filariasis entre la población.

Entre los mosquitos capturados en Jamaicatown se encuentra en gran número el *Culex fatigans*, que juega un papel muy importante en la trasmisión de la filariasis.

ZUSAMMENFASSUNG

In der am Karibischen Meer gelegenen Hafenstadt Limón in Costa Rica untersuchte der Verfasser im Januar 1953 die hauptsächlich aus Farbigen bestehenden Bewohner eines Häuserblockes in dem Stadtteil Jamaica-Town auf Filarien.

Unter 137 untersuchten Personen befanden sich 21 positive Fälle von Mikrofilarien *Wuchereria bancrofti*. Die Zahl der in 20 cmm Blut gefundenen Mikrofilarien schwankte von 1 – 289.

Fünf von den 21 positiven Personen zeigten geringe Leistendrüsenschwellungen, 1 Person leichtes Fussödem, die übrigen wiesen keinen krankhaften Befund auf, insbesondere wurden keine elephantiasisartige Veränderungen gefunden.

Im Vergleich zu der von BUTTS in Jamaica-Town in grösserem Stil durchgeführten Untersuchung auf filariasis im Jahre 1946 wird festgestellt, dass der filarianbefall der Bevölkerung nicht zurückgegangen ist.

Unter dort gefangenen Mücken waren am zahlreichsten *Culex fatigans* vertreten, die eine wichtige Überträgerrolle bei der Filariasis zu spielen scheint.

SUMMARY

In 1953 the inhabitants, mostly coloured, of 25 houses in one city block in the Jamaicatown quarter of Port Limón, situated on the coast of the Caribbean sea in Costa Rica, were examined for filariasis. Out of 137 patients examined, there were 21 positive cases of microfilariae of *Wuchereria bancrofti*, fluctuating between 1 and 289 per 20 mm^3 blood.

Among those 21 positive cases there were 5 showing insignificant tumefactions of the inguinal glands, and one patient showing slight oedema of the foot; the rest had no pathological signs. No elephantiasis was observed.

In comparison with the results obtained by BUTTS in Jamaicatown in 1946, no decrease of filariasis could be observed among the inhabitants.

Among the mosquitoes caught at Jamaicatown, *Culex fatigans* is the dominant species. This mosquito is known to play an important role in the trasmission of filariasis.

BIBLIOGRAFIA

BUTTS, D.C.A.

1947. Filarial infection in Costa Rica. *Amer. J. trop. Med.* 27 (5):607-615.

Rev. Biol. Trop. 2(1):45-58

Estudio comparativo del contenido de ácido cítrico y vitamina C en el jugo de algunas variedades de Citrus de uso popular *

por

Julio E. Van Der Laat S.

(Recibido para su publicación el 30 de junio de 1954)

INTRODUCCION

El presente estudio tiene por objeto determinar y comparar el contenido de ácido cítrico y ácido ascórbico en las frutas cítricas de uso más corriente en la región de San José. Aunque VIVES (9) estudió detalladamente el "limón agrio" de Costa Rica, no investigó su contenido de vitamina C y el estudio de BALTODANO (2) se refiere únicamente al "limón dulce" de Costa Rica. El creciente consumo de frutas cítricas en los años recientes, y el desarrollo del cultivo de las mismas en el país, indican la conveniencia de efectuar esta investigación, que se adiciona a la serie de estudios bromatológicos llevados a cabo en esta escuela.

MATERIAL

Para la realización de este trabajo se escogió las diez variedades que parecieron de mayor consumo y más conocidas por nuestro pueblo; sus nombres populares más corrientes son:

1) Naranja dulce criolla
2) Naranja malagueña
3) Naranja Washington de ombligo
4) Naranja agria criolla
5) Mandarina agria
6) Limón agrio criollo
7) Mandarina criolla
8) Lima agria
9) Limón dulce
10) Grape fruit blanca.

* Trabajo efectuado en la Escuela de Farmacia, Universidad de Costa Rica.

Todas las frutas con que se llevó a cabo este estudio fueron obtenidas en la Provincia de Alajuela, de la región de San Josecito, a una altura de unos 800 m sobre el nivel del mar y en la estación lluviosa. El contenido de ambos constituyentes estudiados puede variar según la estación, la región y el terreno; por lo tanto, los valores obtenidos no deben tomarse como definitivos, sino más bien como una base para estudios posteriores sobre todas las frutas del país.

A continuación se describe detalladamente cada una de las variedades estudiadas.

MUESTRA Nº 1

NARANJA DULCE CRIOLLA
Citrus sinensis (L.) Osbeck.

Nuestra naranja dulce criolla es el resultado de un sinnúmero de cruces naturales de diferentes variedades de naranjas del Mediterráneo importadas por los españoles (fig. 1).

Son árboles grandes, con retoños muy espinosos, que dan gran cantidad de frutas generalmente de tamaño mediano. Las frutas maduras son de un color amarillo brillante o amarillo rojizo fuerte. Producen bastante jugo y actualmente se consumen en gran cantidad.

MUESTRA Nº 2

NARANJA MALAGUEÑA
Citrus sinensis (L.) Osbeck. Variedad Malagueña.

Su determinación botánica es bastante difícil, por ser el producto de un indeterminado número de cruces. Sin embargo, sus caracteres ya se han fijado y se pueden reproducir exactamente.

Son árboles muy parecidos a los naranjos criollos, pero las frutas, generalmente de color amarillo pálido o verdoso, son de un sabor dulce, más bien insípido, tanto que a muchísimas personas les repugna.

La fruta es preferida especialmente por los niños, que la consumen de preferencia en jugo (fig. 2).

MUESTRA Nº 3
NARANJA WASHINGTON DE OMBLIGO

Citrus sinensis (L.) Osbeck. Variedad Washington de ombligo — Washington Navel — Riverside Navel — Naranja de Ombligo — Naranja de Bahia.

Existen en Costa Rica seis variedades de esta naranja que tienen semillas y una variedad que no las tiene, que fué la que se usó para las valoraciones.

Arbol no mul alto, generalmente con escasa cosecha. Naranjas grandes, de buena apariencia y sabor, con un "ombligo" formado por duplicación del verticilo carpelar; con regular cantidad de jugo (fig. 3).

MUESTRA Nº 4

NARANJA AGRIA CRIOLLA

Citrus aurantium L.

Hay algunas variedades de naranja agria criolla, pero la más corriente es la "seca", que se usó en este estudio.

Arbol parecido a los anteriores; las frutas más pequeñas, bastante escasas de jugo. Se usa mucho para hacer refrescos. Otro uso bastante importante de esta planta es como "patrón" para injertos de otros *Citrus,* debido a que, por tener un pivote profundo, resiste la sequía con facilidad (fig. 4).

MUESTRA Nº 5

MANDARINA AGRIA

Citrus aurantifolia (Christm.) Swingle variedad Rangpur — Naranja Mandarina — Limón Mandarina — Limón Real.

Arbol grande, espinoso, con gran cantidad de frutas que, cuando maduran, adquieren un bonito color amarillo rojizo; fáciles de pelar (de donde les viene el nombre popular de Mandarina) y de sabor ácido. Muy usadas en la preparación de refrescos y como sustituto del Limón Agrio en la confección y presentación de bebidas alcohólicas (fig. 5).

MUESTRA Nº 6

LIMON AGRIO CRIOLLO

Citrus aurantifolia (Christm.) Swingle.

Citrus acida — *Limonica aurantifolia* Christmann — *Citrus Limetta* auct. non Risso — Lima (var. mexicana) Hume.

Limón agrio criollo variedad lisa. Es una limilla. Se cree que sea el producto de una mezcla de un kumquat con otros limones, de donde adquirió el nombre de Lima-quat. Es muy popular en América Latina. En Costa Rica goza de gran prestigio, y se usa en grandes cantidades; pero debido a su época de cosecha muy marcada, escasea en varios meses del año. El árbol es generalmente pequeño, muy espinoso, y produce abundante cosecha.

Según la región, la fruta varía ligeramente de forma, siendo más larga, más redonda, más grande, etc. Por lo general las frutas son algo alargadas, de color amarillo verdoso claro, con cáscara fina y difícil de pelar (fig. 6).

MUESTRA Nº 7

MANDARINA CRIOLLA

Citrus nobilis Lour

Citrus deliciosa. (Ten.) Swingle. STANLEY (8) la anota en la Flora of Costa Rica como *Citrus nobilis* Lour. *var. deliciosa* (Ten.) Swingle.

Fué traída a Costa Rica de Europa y de Norte América, habiendo desarrollado caracteres propios, por lo que no aparece en ningún catálogo. El árbol es

muy susceptible a las enfermedades, adquiriendo una especie de cáncer que causa estragos en las plantaciones. Es árbol grande, de hojas menudas, generalmente de mucha cosecha, dependiendo de la cantidad el tamaño de las frutas. Estas son con frecuencia más anchas que largas, de color amarillo rojizo encendido, y muy fácilmente pelables.

Son muy aromáticas y corrientemente comunican su olor al que las come, no desapareciendo sino al cabo de algún tiempo (fig. 7).

MUESTRA Nº 8

LIMA AGRIA

Citrus limonia Osbeck. Variedad rugosa — Florida Rough — Limón rugoso — Limón real.

Este árbol fué importado de Norte América especialmente para sembrarlo en terrenos de aluvión por sus raíces horizontales y poco profundas. Tiene la ventaja de dar fruta todo el año. También se usa bastante como patrón de injertos.

El árbol es grande, espinoso, con gran cantidad de fruta de color amarillo claro cuando maduran, fáciles de pelar y con mucho jugo de sabor bastante ácido. Todavía no se consume mucho en el país (fig. 8).

MUESTRA Nº 9

LIMON DULCE

Citrus limetta Risso.

Su identificación botánica se presta a las mayores confusiones. Antes se separaban en dos grupos: las limas y los bergamotos, incorporándose estos últimos como una variedad de *Citrus bergamium*. El Diccionario de Agricultura Salvat, 2ª Edición, p. 485 (6), lo clasifica como *Citrus lumia* Risso y también como *C. limonium-dulcis* Nouv. Duham., pareciendo ser esta última la más aceptada actualmente. Se supone que es un híbrido entre *Citrus medica y C. aurantium*. Posiblemente vino a Cosa Rica importado de Europa, aunque algunos sostienen que una variedad vino del Brasil.

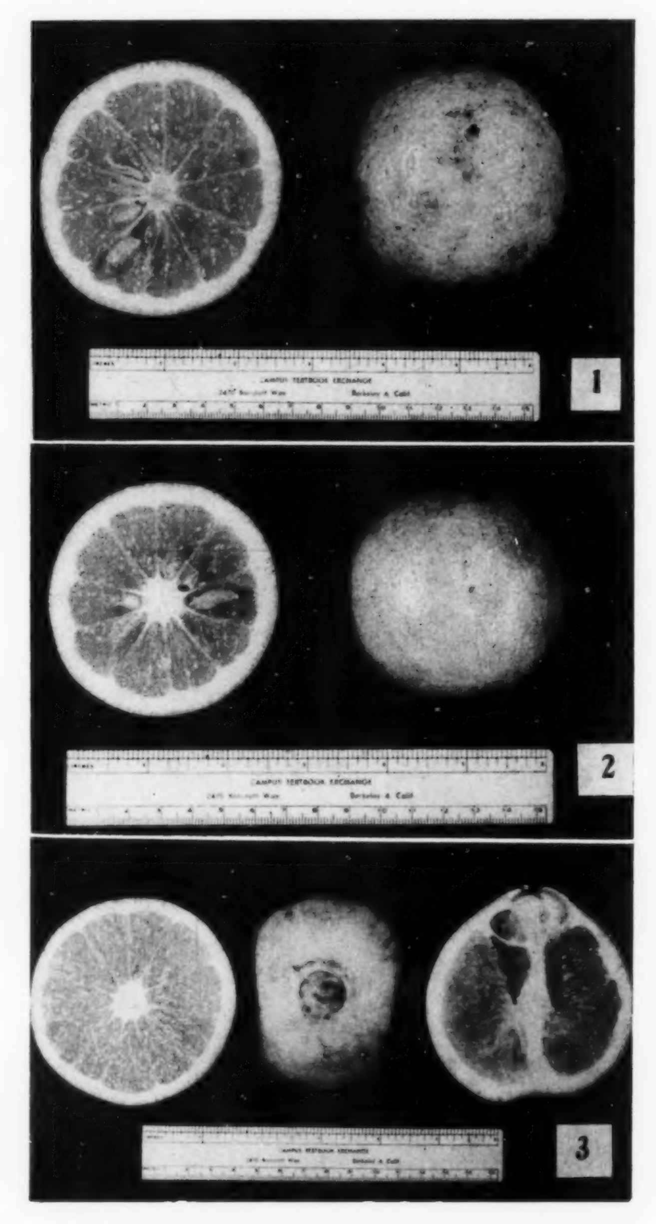
El árbol no es muy alto. La cosecha no es muy abundante; las frutas son de regular tamaño, amarillo claro, con mucho jugo poco ácido que toma un sabor amargo casi inmediatamente cuando se expone al aire (fig. 9).

MUESTRA Nº 10

GRAPE FRUIT BLANCA

Citrus grandis (L.) Osbeck.
Citrus maxima.

Hay en Costa Rica algunas variedades que se diferencian en el color de la pulpa (blanca, con cáscara verdosa pálida, o rosada, con cáscara amarillenta),



Figs. 1 a 3: Variedades de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck

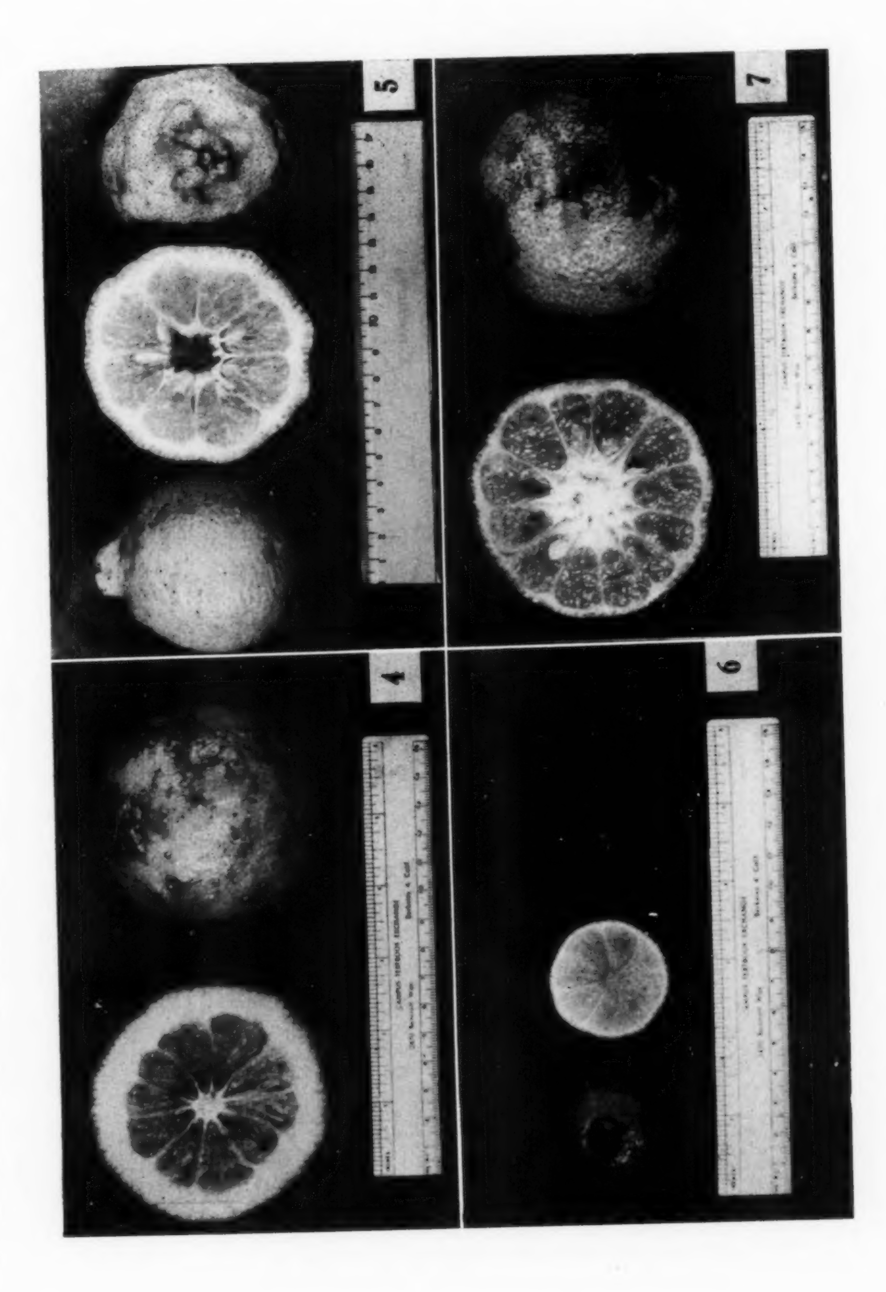
Fig. 1: Naranja dulce criolla.
Fig. 2: Naranja malagueña.
Fig. 3: Naranja Washington de ombligo.

Fig. 4: Naranja agria criolla. *Citrus aurantium* L.

Fig. 5: Mandarina agria. *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle. Variedad Rangpur.

Fig. 6: Limón agrio criollo. *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle

Fig. 7: Mandarina criolla. *Citrus nobilis* Lour.


5
7
4
6

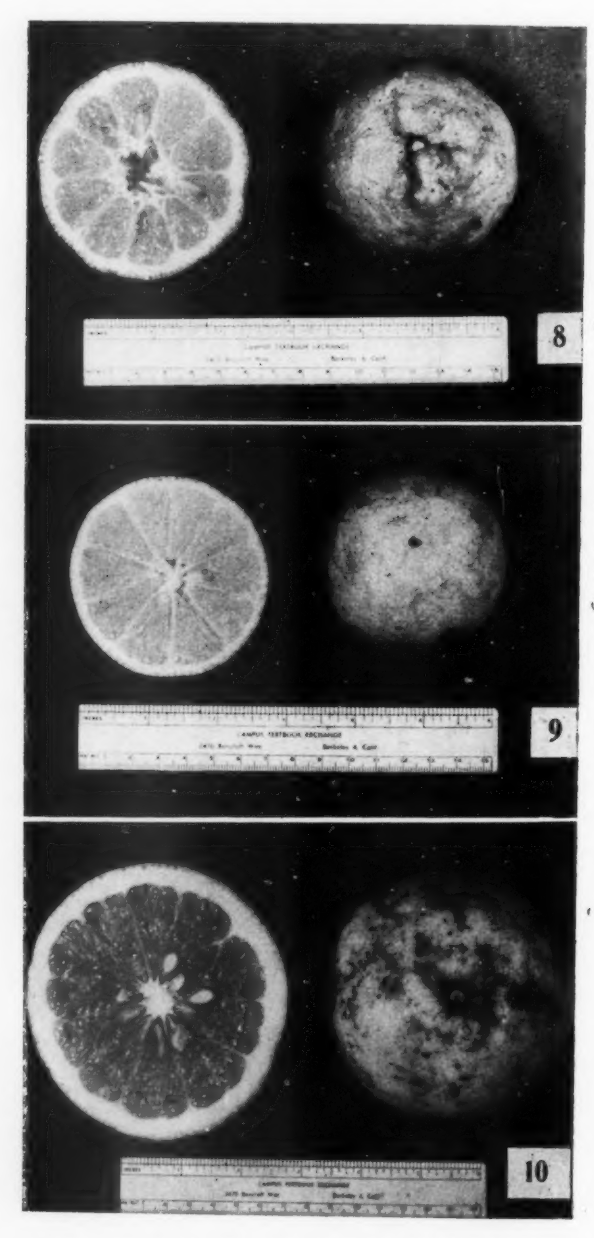


Fig. 8: Lima agria. *Citrus limonia* Osbeck. Variedad rugosa.
Fig. 9: Limón dulce. *Citrus limetta* Risso.
Fig. 10: Grape fruit blanca. *Citrus grandis*. (L.) Osbeck.

en la forma, y en tener, o no, semillas. Para este trabajo se usó la variedad blanca con semillas, por ser una de las más populares y preferida en el consumo de su jugo.

No es sino en los últimos años que el pueblo, especialmente la gente que vive en la ciudad, ha empezado a consumir esta fruta, prácticamente desconocida aquí antes de la última guerra mundial.

El árbol es de regular tamaño, y da la impresión de producir gran cosecha debido al tamaño de las frutas.

Estas son de un color amarillo verdoso muy pálido y contienen mucho jugo de un sabor amargo característico (fig. 10).

INVESTIGACION DEL CONTENIDO DE ACIDO CITRICO

METODO

Se siguió el llamado Método de Pratt, según lo indican LEACH y WINTON (5). Consiste en una determinación gravimétrica indirecta, en la que el ácido cítrico sufre una serie de transformaciones.

Primero se separa, tratándolo con acetato de bario para precipitarlo como citrato de bario, según la ecuación:

$$2\ C_6H_8O_7 + 3\ Ba(CH_3COO)_2 \rightarrow Ba_3(C_6H_5O_7)_2 + 6\ CH_3COOH.$$

Luego se disuelve el citrato de bario con ácido fosfórico siruposo, formándose de nuevo el ácido cítrico, así:

$$Ba_3(C_6H_5O_7)_2 + 2\ H_3PO_4 \rightarrow 2\ C_6H_8O_7 + Ba_3(PO_4)_2.$$

A este ácido cítrico en solución se le agrega agua hirviente acidulada con ácido fosfórico y se calienta, añadiéndole cuando hierve solución de permanganato de potasio hasta aparición del color rosado típico, transformándose por oxidación, el ácido cítrico en acetona, según la ecuación:

$$5\ C_6H_8O_7 + 2\ KMnO_4 + 3\ H_3PO_4 \rightarrow 5\ C_3H_6O + K_2HPO_4$$
$$+ 2\ MnHPO_4 + 15\ CO_2 + 8\ H_2O.$$

La acetona se destila luego sobre una solución de sulfato mercúrico, que se reduce a mercurioso precipitando, así:

$$C_3H_6O + HgSO_4 + 2\,H_2O \rightarrow 2\ Hg_2SO_4 + C_2H_4O_2 + H_2SO_4.$$

Este sulfato mercurioso es el que se pesa, y el peso se multiplica por un factor que se obtiene de la siguiente manera:

$$FG = \frac{B}{E} = \frac{\text{Acido Citrico}}{\text{2 Sulfato mercurioso}} = \frac{210.14}{994.56} = 0.211$$

El método usa el factor 0.22, sin duda como factor experimental, y así se tomó para los cálculos. Se debe hacer notar que, para el cálculo anterior, se tomó el peso molecular del ácido cítrico hidratado con una molécula de agua de cristalización.

FACTOR DE CORRECCION

Se llevó a cabo el ensayo con una solución conocida de ácido cítrico, previamente valorado como lo indica la F.E.U.XII, con los siguientes resultados:

Número de valoraciones	8
Peso tomado de ácido cítrico	2.0417 gms
Resultado máximo	1.2355
Resultado mínimo	1.1528
Resultado promedio	1.1990
Error promedio	0.8427
Porcentaje de error	41.27%
FACTOR DE CORRECCION	70.28 gms %

Es decir que por cada 100 gms de ácido cítrico obtenidos por la valorización hubo necesidad de agregar 70.28 gms para obtener el valor real. En mi opinión, el defecto del método, que da como consecuencia la aparición de ese error, consiste en que parte de la acetona destilada se escapa y no reacciona con el sulfato mercúrico, por lo que se pesa menor cantidad de sulfato mercurioso precipitado. Sin embargo, no deja de ser curioso que el error sea constante en todas las valoraciones.

RESULTADOS

El cuadro I que aparece a continuación muestra los resultados obtenidos. Se ha ordenado la lista en orden descendiente de su contenido de ácido cítrico.

CUADRO I

Presencia de ácido cítrico en los cítricos de Costa Rica

Nº de Orden	NOMBRE POPULAR	Nº de Pruebas	ACIDO CITRICO EN EL JUGO Gramos / 100 gramos		
			Máximo	Mínimo	Promedio
1	Limón agrio criollo	3	5.21	4.95	5.09
2	Lima agria	4	4.68	4.63	4.67
3	Mandarina agria	4	4.48	4.39	4.43
4	Naranja agria criolla	3	2.64	2.50	2.57
5	Grape fruit blanca	3	1.41	1.35	1.40
6	Mandarina criolla...	3	0.58	0.51	0.54
7	Naranja dulce criolla	3	0.41	0.36	0.37
8	Naranja Washington de ombligo	3	0.26	0.20	0.24
9	Naranja malagueña	2	0.005	0.005	0.005
10	Limón dulce	2	0.002	0.002	0.002

INVESTIGACION DEL CONTENIDO DE ACIDO ASCORBICO (VITAMINA C)

METODO

Para la determinación del ácido ascórbico se siguió el método indicado por la Farmacopea de los Estados Unidos (5). Para la valoración del reactivo se usó una solución tipo de ácido ascórbico, valorada por el método indicado en la página 18 del mismo libro. Además se adoptaron las variaciones que, para valoraciones de jugos de frutas cítricas, indica el "Official and Tentative Methods of Analysis of the Association of Official and Agricultural Chemists" (9).

El método consiste esencialmente en la valoración de la solución de 2-6 diclorofenol-indofenol con ácido ascórbico tipo, previamente valorado con solución decinormal de iodo.

Para la valoración del reactivo y las de los jugos, el ácido ascórbico se extrae con una solución de ácido metafosfórico y ácido acético glacial. La solución de 2-6 diclorofenol-indofenol es azul en medio básico y rosada en medio ácido; por lo tanto, se agrega a la solución de vitamina C o de jugo suficiente cantidad del reactivo, hasta que aparezca un débil color rosado, que marca el final de la valoración. Este es el método más usado hoy día, debido a su gran exactitud y facilidad de aplicación.

RESULTADOS

En igual forma que con el ácido cítrico, se presenta a continuación los resultados obtenidos, colocados en orden descendiente de contenido de ácido ascórbico (cuadro II).

CUADRO II

Presencia de ácido ascórbico en los cítricos de Costa Rica

Nº de orden	NOMBRE POPULAR	Nº de pruebas	Acido ascórbico en el jugo mgs/ 100 cc. Promedio
1	Naranja dulce criolla	3	49.24
2	Naranja malagueña...	3	48.44
3	Limón dulce	3	46.98
4	Naranja Washington de ombligo	3	37.80
5	Grape fruit blanca	3	33.48
6	Naranja agria criolla	3	32.56
7	Lima agria	3	30.68
8	Limón agrio criollo	3	21.54
9	Mandarina agria	3	12.16
10	Mandarina criolla	3	8.10

DISCUSION

En el cuadro III se compara las cifras obtenidas para ambos ácidos en las frutas estudiadas, colocadas en orden decreciente de contenido de ácido ascórbico.

Se observa en esa tabla que existe casi una razón inversa entre ambos, es decir, que según los resultados obtenidos, las frutas más ácidas son las que contienen menor cantidad de vitamina C — destacándose la mandarina criolla por su escaso contenido de ambas substancias. Esta observación contradice, hasta cierto punto, la creencia muy generalizada de que el ácido ascórbico está en razón directa con la cantidad de ácido cítrico en el jugo. No deja de ser curioso también que, aun con esa fuerte corriente a favor de las frutas ácidas, nuestro campesino prefiera el limón dulce desde hace mucho tiempo como "medicinal" al limón agrio. Este trabajo viene a demostrar que algún fundamento había para tal opinión.

QUINTANA (9) encontró la misma posición relativa en cuanto a contenido de ácido ascórbico, en algunas frutas cítricas de Guatemala.

Desde el punto de vista dietético, se nota que con un vaso (de 200 cc. o poco más) de jugo de cualquiera de las primeras cinco variedades según el ordenamiento de la tabla, se satisface la dosis diaria de ácido ascórbico recomendada por el Committee on Foods and Nutrition, National Research Council (E.U.A.) Véase HARROW, 1950 (6)) asumiendo que el jugo fuera la única fuente de vitamina C en la dieta; se necesitarían cantidades algo mayores de las tres variedades siguientes, resultando la mandarina agria y la mandarina criolla bastante inferiores a las demás en este sentido.

CUADRO III

Promedios comparados de contenido de ácido cítrico y ácido ascórbico en el jugo de frutas cítricas

NOMBRE POPULAR	Acido Ascórbico en el jugo, en mgs/100 cc.	Acido Cítrico en el jugo, en mgs/100 cc.	Número de Orden Acido Ascórbico	Número de Orden Acido Cítrico
Naranja dulce criolla	49.24	0.37	1	7
Naranja Malagueña	48.44	0.005	2	9
Limón dulce	46.98	0.002	3	10
Naranja Washington de ombligo	37.80	0.24	4	8
Grape fruit blanca	33.48	1.40	5	5
Naranja agria criolla	32.56	2.57	6	4
Lima agria	30.68	4.67	7	2
Limón agrio criollo	21.54	5.09	8	1
Mandarina agria	12.16	4.43	9	3
Mandarina criolla	8.10	0.54	10	6

RECONOCIMIENTO

El autor hace constar su profundo agradecimiento a los señores profesores G. González, E. Rodríguez, M. Quirós C. (de grata memoria), J. M. Arias y J. M. Orozco, sin cuya valiosa y desinteresada cooperación hubiera sido imposible la ejecución de este trabajo.

RESUMEN

Se determinó el contenido del ácido cítrico y ácido ascórbico del jugo de las diez variedades de frutas cítricas más corrientes de Costa Rica. Comparando los resultados para ambas sustancias, se ve que el contenido de ácido ascórbico no está en razón directa con el de ácido cítrico, sino que las naranjas de menor contenido de éste tienen las mayores proporciones de aquél, mientras que los limones y variedades más ácidas contienen menos ácido ascórbico. La mandarina criolla resultó muy pobre en ambos ácidos.

SUMMARY

The citric acid and ascorbic acid contents were measured in the ten most common citrus fruit varieties of Costa Rica.

Comparison of results for both substances shows that the greatest amounts of ascorbic acid are found in oranges with low citric acid content, while the high citric acid varieties of lemons and oranges contain much less ascorbic acid.

The local variety of tangerine is quite poor in both acids.

RÉSUMÉ

La quantité d'acide citrique et d'acide ascorbique a été mesurée dans les jus des dix fruits citriques les plus connues de Costa Rica. La comparision des chiffres obténues pour les deux acides montre que la quantité d'acide ascorbique n'est pas directement proportionelle a celle d'acide citrique: le plus grand contenu d'acide ascorbique se trouve chez les oranges douces, autant que les varietés plus acides d'orange et les citrons contiennent beaucoup moins d'acide ascorbique.

Les mandarines créoles sont bien pauvres des deux acides étudiés.

RIASSUNTO

L'A. titola la quantitá di acido ascorbico e di acido citrico contenuta nel sugo degli agrumi (10 varietà) di Costa Rica. Si comparano i risultati dei due acidi e si constata che l'acido ascorbico é presente in maggiore misura nelle varietà che contengono meno acido citrico, mentre i limoni e le varietà più acide d'arancie contengono minor quantità di acido ascorbico. I "mandarini" creoli sono assai poveri di entrambi gli acidi.

ZUSAMMENFASSUNG

Den Inhalt an Zitronen– und Ascorbinsäure hat der Verfasser bei zehn der verbreitetesten Arten von Zitrus– Früchten in Costa Rica bestimmt. Die erhaltenen Säuremengen vergleichend, ergibt sich, dass bei grösserer Konzentration an Ascorbinsäure, ein geringer Inhalt von Zitronensäure besteht und umgekehrt wo mehr Zitronensäure gefunden wurde, weniger Ascorbinsäure vorhanden ist. Die einheimische Abart der Mandarine enthält sehr wenig an beiden Säuren.

BIBLIOGRAFIA

1. A.O.A.C.

1945. *Official and tentative methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists.* 6ª Ed. XII + 932 pp. Washington, D.C.

2. BALTODANO, BELÉN.

1943. *El limón dulce en Costa Rica.* Tesis. Farmacia, Universidad de Costa Rica

3. FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA.

1944. XII Revisión CIII + 983 pp. Trad. Oficina Sanitaria Panamericana. University Society, N.Y.

4. HARROW, B.

1950. *Tratado de bioquímica.* Trad. de la IIª Ed. en inglés por J. Giral. XVIII + 732 pp. Atlante, México.

5. LEACH, A. y A. WINTON.

1941. *Food inspection and analysis.* 4ª Ed. XIX + 1090 pp. J. Wiley & Sons, N.Y.

6. MATONS, A.

1939. *Diccionario de agricultura, zootecnia y veterinaria.* 2ª Ed. 3 vols. VIII + 1039 pp.; VI + 858 pp.; VI + 1026 pp. Salvat, Barcelona.

QUINTANA, C.E.

1947. *Determinación del ácido ascórbico en frutos y leches de vaca en Guatemala.* Tesis 21 pp. Ciencias Naturales y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.

8. STANLEY, P.

1937. *Flora of Costa Rica.* 4 vols. 1616 pp. Field Mus. Pub. Bot. 18. Chicago, Ill.

9. VIVES, L.

1942. *El limón agrio en Costa Rica.* Tesis 57 pp. Farmacia, Universidad de Costa Rica.

Rev. Biol. Trop. 2(1):59-68

Proteinemia normal en Costa Rica

por

José Miguel Jiménez *

(Recibido para su publicación el 17 de marzo de 1954)

En el presente estudio se muestran los niveles proteicos normales obtenidos para la población de Costa Rica, mediante la aplicación de un nuevo método de determinación cuantitativa de las proteínas séricas, el método de WOLFSON y colaboradores (15).

La finalidad del trabajo no ha sido exclusivamente establecer normales para las proteínas séricas totales y sus dos principales fracciones, sero albúmina y sero globulinas, ya que además las fracciones globulínicas α, β y γ nunca se habían investigado en nuestro medio.

El estudio de 500 sangres normales, sin que signifique que sea realmente representativo de la totalidad de la población, es de gran utilidad ya que nos da datos que pueden servir de comparación con los resultados obtenidos al usar el mismo método en los casos clínicos.

MATERIAL Y METODOS

A.—La determinación cuantitativa de las proteínas se hizo siguiendo el método de WOLFSON ET AL. (15), con la modificación de que se usó éter puro en vez del reactivo de Span-éter, ya que no fué posible conseguir el Span 20.

B.—Para hacer las determinaciones se usó el fotocolorímetro Klett Summerson con filtro verde según indicación de los investigadores HILARY ROSS & GEMAR (11), previamente calibrado con una solución conocida de proteínas, (la concentración proteica del suero usado en la calibración del fotocolorímetro, fué determinada mediante el método de Kjeldahl, como recomienda GRADWOHL (7)).

* Laboratorio Bacteriológico del Hospital San Juan de Dios, División de Bioquímica.

C.—El material humano se obtuvo de dos fuentes diferentes. El Laboratorio Bacteriológico del Ministerio de Salubridad Pública suministró sangres de niños sanos. El Banco de Sangre del Hospital San Juan de Dios suministró las sangres de adultos. Los especímenes aunque fueron tomados por la mañana, no lo fueron necesariamente en ayunas, estos se conservaron en refrigerador y las determinaciones se hicieron pocas horas después de su obtención. En este estudio se descartaron los sueros de todos aquellos individuos con reacción de Kahn o V.D.R.L. positivos. Los individuos tomados como muestra en este estudio presentaban las siguientes características:

EDAD: Oscilaba entre 6 y 60 años.

SEXO: 113 mujeres adultas y 69 niñas; 287 hombres adultos y 31 niños.

RESIDENCIA: Los individuos escogidos eran representantes de toda la Nación, siendo un 54 por ciento residentes de la provincia de San José.

OCUPACIÓN: Grupo formado por personas de todas las condiciones sociales y económicas, así como también de todas las profesiones y oficios.

INFLUENCIA DE LA HEMOLISIS EN EL METODO USADO

Es importante saber hasta qué punto en un suero hemolizado pueda o no determinarse las proteínas cuantitativamente por el método de WOLFSON, sin que haya variación de los resultados. Por no indicar los autores del método (15) la influencia de la hemólisis en los resultados finales, hemos creído conveniente hacer un breve estudio sobre el asunto.

Se procedió de la siguiente manera: en 8 tubos se colocaron porciones de 2 cm^3 de suero. Previamente se preparó una solución de glóbulos rojos humanos al 1 por mil en solución salina fisiológica. A los 7 primeros tubos se les adicionó una cantidad conocida de glóbulos rojos en orden creciente del 1 al 7, se centrifugó y descartó la solución salina sobrenadante y al sedimento de glóbulos se le adicionó 0,1 cm^3 de agua destilada con la finalidad de producir diferenfes grados de hemólisis; el tubo 8 se dejó como testigo. Después de transcurridos algunos minutos y una vez completada la hemólisis en cada tubo, se determinaron las proteínas totales, sero albúmina, sero globulinas totales y sus fracciones α, β y γ. Los resultados obtenidos se han resumido en el cuadro I.

Analizando los datos del cuadro I observamos:

1) Que el suero Nº 1 adicionado de una cantidad muy pequeña de glóbulos rojos (aproximadamente 0,0005 ml), no presentó variación en las determinaciones de las proteínas totales así como en sus fracciones con respecto al suero testigo Nº 8.

2) Que en los sueros: 2, 3, 4, 5, 6 y 7 se observa un aumento progresivo de: a) las proteínas totales; b) las globulinas totales; c) las α globulinas y una variación irregular de la β globulina. No se encontró una explicación para esta variación irregular de la β globulina.

CUADRO I

Influencia de la hemólisis en la determinación de las fracciones proteicas del suero humano

Tubo Nº	VALORES EN GRAMOS POR CIENTO						Relación A/G
	PT	A1	GT	α	β	γ	
1	6,35	3,30	3,05	0,65	0,94	1,46	1,08
2	6,45	3,30	3,15	0,95	0,74	1,46	1,04
3	6,55	3,30	3,25	1,10	0,69	1,46	1,00
4	6,64	3,30	3,34	1,18	0,70	1,46	0,98
5	6,70	3,30	3,40	1,25	0,69	1,46	0,97
6	6,78	3,30	3,48	1,32	0,70	1,46	0,94
7	6,92	3,30	3,62	1,50	0,66	1,46	0,91
8	6,35	3,30	3,05	0,65	0,94	1,46	1,08

PT: Proteínas totales
A1: Sero albúmina
GT: Sero globulinas totales
α: Alfa globulina
β: Beta globulina
γ: Gama globulina

3) Asimismo se observa que en ninguno de los sueros se presentó variación de las cantidades totales de la sero albúmina, ni de la γ globulina. La relación A/G disminuye en su valor hasta invertirse.

De tales observaciones se deduce que siendo la hemoglobina una proteína, reaccionará con el reactivo de Biuret dando resultados más elevados para las proteínas totales.

Es importante hacer notar que en los tubos en que se hacía la determinación de la α globulina con sulfato de sodio al 23,0 por ciento, el centrifugado claro mostraba una coloración rojo pálida debida a la hemoglobina que no fué removida.

ESTUDIO COMPARATIVO DEL METODO USADO

En la rutina de nuestros laboratorios clínicos en Costa Rica se usan generalmente métodos químicos para la determinación cuantitativa de las proteínas séricas. Estos métodos han traído por consecuencia, en el mundo científico, una serie de discusiones en cuanto a su exactitud. Para algunos investigadores, con dichos métodos no se obtienen datos reales ya que con los agentes precipitantes de las proteínas no se puede asegurar una específica y total precipitación de una determinada fracción. La razón que se expone es la de que si con un agente químico se precipita una determinada fracción proteica y que si luego de separada ésta

se le hace un análisis electroforético, se observa en el diagrama respectivo que la fracción no se encontraba pura, sino que al precipitar arrastró pequeñas cantidades de otras fracciones (3), lo que alterará los resultados finales.

Este error ha sido corregido en el método de WOLFSON (15), o al menos se ha reducido al mínimo. Los autores han hecho comparación de los resultados obtenidos en una determinación cuantitativa de proteínas séricas por el método químico y con el análisis electroforético respectivo del mismo suero, obteniendo resultados semejantes. Para una explicación más clara del asunto veamos el cuadro II, tomado del trabajo de WOLFSON y colaboradores (15).

CUADRO II

Datos comparativos en la determinación de proteinas por fraccionamiento químico y electroforesis

(Según WOLFSON y colaboradores (15))

Verificado por	Nº dosificaciones	Fraccionamiento	VALORES EN GRAMOS POR CIENTO					Relación A/G
			A1	GT	α	β	γ	
Conh *et al.*	4	Químico	2,40	3,58	1,15	0,94	1,49	0,67
		Electr.	2,48	3,53	1,13	0,92	1,48	0,70
Conh *et al.*	10	Químico	2,41	5,24	—	—	—	0,46
		Electr.	2,42	5,14	—	—	—	0,47

Analizando los resultados obtenidos por los autores se deduce que las diferencias entre el fraccionamiento químico y electroforético están reducidas a pequeñas variaciones del segundo decimal, por lo tanto se puede considerar que dicho método químico es bastante exacto y sus resultados comparables con los obtenidos por el método electroforético, aceptado universalmente como el más exacto.

En el transcurso de nuestras investigaciones se hizo una comparación del método de WOLFSON (15), con los métodos de determinación cuantitativa de las proteínas séricas de Greenberg modificado por KOLMER (9) y el de PHYLLIPS VAN SLYKE (7). Los resultados obtenidos se han resumido en el cuadro Nº III.

Se observa que por los tres métodos, la determinación de las proteínas totales fué semejante. El valor obtenido por el método de Wolfson para la sero albúmina, difiere del obtenido por el método de Greenberg, en un excedente aproximadamente semejante al valor de la α globulina. Esto es debido a que en el método de Greenberg la sero albúmina es separada de las globulinas totales mediante la precipitación de estas últimas con sulfato de sodio al 22,2 por ciento;

y, una concentración aproximada de sulfato de sodio, de 23,0 por ciento, es usada en el método Wolfson para precipitar solamente la β y γ globulinas juntas, es decir quedan en solución la sero albúmina más la α globulina. Es por esta razón que se obtiene un valor mayor para la sero albúmina por el método de Greenberg modificado por Kolmer, y por consecuencia el valor de las globulinas totales será menor. Se observa también una marcada diferencia entre la relación A/G por el método de WOLFSON (15) y la misma por el método de GREENBERG modificado (9).

CUADRO III

Datos comparativos en la determinación cuantitativa de proteínas por tres diferentes métodos químicos

Suero Nº	WOLFSON				GREENBERG				Phyllips Van Slyke
	P.T.	Al.	G.T.	A/G	P.T.	Al.	G.T.	A/G	P. T.
1	7,00	2,91	4,09	0,71	7,00	4,57	2,43	1,81	7,00
2	6,35	1,88	4,47	0,42	6,30	2,90	3,40	0,85	6,30
3	5,70	3,45	2,25	1,52	5,65	3,75	1,90	1,90	5,65
4	7,30	4,10	3,20	1,05	7,31	5,02	2,18	2,21	7,30
5	7,00	3,45	3,55	0,97	7,00	4,35	2,65	1,63	7,00

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el presente estudio se han resumido en el cuadro IV.

CUADRO IV

Proteinemia normal en Costa Rica

	Nº de casos	VALORES NORMALES ENCONTRADOS						Relación A/G
		P. T.	Al.	G. T.	α	β	γ	
X		7,00	3,89	3,11	1,03	0,86	1,22	1,25
s	500	0,49	0,48	0,39	0,23	0,25	0,18	0,26
%		100	55,56	44,44	14,17	12,28	17,44	—

X: Media aritmética* (1) (4) (14)
%: Porcentaje relativo
P.T.: Proteínas totales
Al: Sero albúmina
G.T.: Sero globulinas totales
S: Desviación standard* (1) (4) (14)
α: Alfa globulina
β: Beta globulina
γ: Gama globulina

* Los valores de la medida aritmética y desviación standard están dados en gramos por ciento.

El análisis del cuadro IV muestra una proteinemia normal aceptable para nuestro medio y es comparable con las obtenidas por otros investigadores en otros países.

CASTELLANOS (2) en Guatemala en 1950 obtiene, al hacer el estudio de las proteínas normales por el método de Biuret en 76 personas, un valor de 57,90 por ciento para la sero albúmina y para las sero globulinas totales de 42,10 por ciento, con una relación A/G de 1,27.

ESCOBAR y MÉNDEZ en 1953 (6), al efectuar estudios microelectroforéticos de las proteínas séricas de 48 personas normales de la Ciudad de Guatemala, obtienen resultados para la sero albúmina de 55,70 por ciento y para las globulinas totales de 44,30 por ciento con un índice A/G de 1,27.

ROBINSON y colaboradores en 1949 (10) establecen el valor de 7,75 gramos por ciento de proteínas totales para sujetos normales de la Ciudad de México.

DEULOFEU y MARENZI en 1942 (5), consideran una proteinemia normal de: Proteínas totales 7,50 gramos por ciento; sero albúmina 5,60 gramos por ciento y sero globulinas totales 1,90 gramos por ciento. Estos últimos valores son bastante diferentes de los obtenidos por nosotros y de los obtenidos por otros investigadores para la sero albúmina y sero globulinas totales respectivamente.

Es importante hacer notar el hallazgo de valores altos de proteínas sanguíneas en personas que carecen de una alimentación bien balanceada, pues se ha observado que una ingestión baja de proteínas en la dieta no siempre va a determinar niveles bajos de proteínas séricas y por el contrario en algunos casos hay un aumento perceptible de estos valores sobre lo normal. ANDERSON y colaboradores en 1946 (12), encontraron en individuos relativamente desnutridos de la América Central y México un aumento de las proteínas séricas comprendido entre los valores de 7,39 y 7,61 gramos por ciento. KAGAN (8) considera que los valores mayores de 7,50 gramos por ciento son anormales.

STOUT y colaboradores (13) en 1952, no encuentran diferencias entre sueros de presuntos sifilíticos y sueros normales, en las distintas fracciones globulínicas.

En cuanto al cuidado de no hacer determinaciones cuantitativas de las proteínas séricas en sueros hemolizados, siempre debe insistirse sobre el asunto pues se observó que una hemólisis, aunque no muy marcada, determina un aumento de las proteínas totales, globulinas totales, α globulina y una modificación de la relación A/G hasta llegar a invertirse. Esta anomalía no debe existir, ya que los resultados pueden ser interpretados erróneamente.

Un estudio comparativo de los valores hallados en Costa Rica, con los mismos hallados por otros investigadores en otros países de Centro América y México, puede hacerse viendo el cuadro V.

El cuadro V nos muestra que tanto los resultados obtenidos por Castellanos, mediante método químico, como los de Robinson y colaboradores en México, y los de Escobar y Méndez, con el método microelectroforético, para las proteínas séricas normales en Guatemala, son comparables con los resultados obtenidos en nuestro medio.

CUADRO V

Datos comparativos de distintos valores proteicos obtenidos en Centro América y México

AUTOR	METODO	Nº de casos	P. T.	Al.	G. T.	A/G
Castellanos* ... ... (2)	Biuret	76	100	57,90	42,10	1,27
Escobar y Méndez* .. (6)	Microelectroforesis	48	100	55,70	44,30	1,27
Robinson et al.** ... ... (10)	....	—	7,75	—	—	—
Jiménez**	Wolfson	500	7,50	3,89	3,11	1,25

* Valores dados en porcentaje relativo.
** Valores dados en gramos por ciento.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se estudió la distribución de los diversos componentes proteicos del suero humano en la población de Costa Rica, en 182 mujeres y 318 hombres de los cuales 69 eran niñas y 31 niños menores de 9 años de edad; se usó el método de WOLFSON y colaboradores (15) para hacer las determinaciones cuantitativas.

Los resultados obtenidos para todo el grupo fueron:

Proteínas totales	=	7,00 ± 0,49 gramos por ciento
Sero albúmina	=	3,89 ± 0,48 gramos por ciento
Sero globulinas totales	=	3,11 ± 0,39 gramos por ciento
α globulina	=	1,03 ± 0,23 gramos por ciento
β globulina	=	0,86 ± 0,25 gramos por ciento
γ globulina	=	1,22 ± 0,18 gramos por ciento
Relación A/G	=	1,25 ± 0,26

En este estudio también se presentan los resultados obtenidos en la comparación del método usado, WOLFSON (15), con los métodos de Greenberg modificado por KOLMER (9) y PHYLLIPS VAN SLYKE (7). Además se observó la influencia de la hemólisis en el fraccionamiento de las proteínas séricas por el método de Wolfson.

SUMMARY

The distribution of the several protein components of human serum was studied in a total of 500 subjects, of which 182 were women and 318 were men; in turn, out of these figures, there were 31 males and 69 females whose age was less than 9 years old. This group was taken as a representative sample fragment of Costa Rican population and Wolfson's method was used in all quantitative determinations.

The following results were obtained for the entire group:

Total proteins	=	7,00 ± 0,49 gr %.
Serum albumin	=	3,89 ± 0,48 gr %.
Total serum globulins	=	3,11 ± 0.39 gr %.
α globulin.	=	1,03 ± 0,23 gr %.
β globulin	=	0,86 ± 0,25 gr. %.
γ globulin	=	1,22 ± 0,18 gr %
A/G ratio	=	1,25 ± 0,26

Also a comparison is made of the results obtained usings Wolfson's procedure with those of Kolmer's modified Greenberg and Van Slyke's.

The influence of hemolysis in the fractionation of serum protein using Wolfson's method was also noticed.

RIASSUNTO E CONCLUSIONI

L'A. considera la distribuzione dei differenti componenti proteici del siero umano in Costa Rica. Fu analizzato il siero di 318 uomini, 182 donne e fra questi 31 bambini e 69 bambine minori di 9 anni. Per le determinazioni quantitative si é usato il metodo di WOLFSON *et al.* (15).

I risultati ottenuti sono:

Proteine totali	=	7,00 ± 0,49 gr.%
Siero albumina	=	3,89 ± 0,48 gr.%
Siero globuline totali	=	3,11 ± 0,39 gr.%
α globulina	=	1,03 ± 0,23 gr.%
β globulina	=	0,86 ± 0,25 gr.%
γ globulina	=	1,22 ± 0,18 gr.%
Relazione A/G	=	1,25 ± 0,26

Nel presente lavoro vengono anche presi in considerazione i risultati ottenuti da Wolfson, Kolmer e Phyllips Van Slyke ed inoltre si fa notare l'influenza dell'emolisi sul frazionamento delle proteine seriche fatto con il metodo di Wolfson.

RECONOCIMIENTO

Quiero expresar mi agradecimiento al Prof. Alfonso Trejos W., Jefe del Laboratorio Bacteriológico del Hospital San Juan de Dios. Al Lic. Arnoldo Castro J., Jefe del Laboratorio Bacteriológico del Ministerio de Salubridad Pública. Al Sr. Ricardo Jiménez J., Jefe del Departamento de Bioestadística de la Lucha Antituberculosa del Ministerio de Salubridad Pública. Al personal técnico administrativo del Banco de Sangre del Hospital San Juan de Dios, por la valiosa ayuda prestada en la realización de este estudio.

BIBLIOGRAFIA

1. BRADFORD HILL, A.
1950. *Estadística médica.* Traducción del inglés por José A. Coll., VIII + 258 pp., Editorial Santa Fe, Argentina.

2. CASTELLANOS, E.
1950. Estudio de las proteínas del suero y sus fracciones en grupos normales de la Ciudad de Guatemala. *La Escuela de Farmacia,* 12(156-159).

3. CORONA, L.
1948. *Química normal y patológica de la sangre.* 4ª ed., 1743 pp., Empresa Editora Zig-Zag, S.A., Santiago de Chile.

4. CROXTON, F.E. & D.J. COWDEN.
1948. *Estadística general aplicada.* Traducción del inglés por T. Ortíz y M. Bravo, 710 pp., Fondo de Cultura Económica, Buenos Aires.

5. DEULOFEU, V. & A.D. MARENZI.
1942. *Curso de química biológica.* 3ª ed., XI + 503 pp., El Ateneo, Buenos Aires.

6. ESCOBAR, CARLOTA, & J. MÉNDEZ.
1953. Estudios microelectroforéticos de las proteínas séricas en grupos normales de la Ciudad de Guatemala y en diversos casos patológicos. *Bol. Of. San. Pan.,* 35(1):17-25.

7. GRADWOHL, R. B. H.
1948. *Clinical laboratory methods and diagnosis.* 4ª ed., Volumen I, VIII + 1295 pp., The C.V. Mosby Company, St. Louis.

8. KAGAN, B. M.
1943. Studies on the clinical significance of serum proteins. II. The relationship between the albumin-globulin ratio, albumin, globulin and total protein. *Arch. Int. Med.,* 71:157-163. Cit. en (13).

9. KOLMER, W.Q & F. BOERNER.
1948. *Methods of clinical laboratory.* 4ª ed., XXXIII + 1083 pp., Editorial Interamericana S.A., México, D.F.

10. ROBINSON, W.D., G.C. PAYNE, & J. CALVO.
1944. A study of nutritional status of population group in Mexico City. *Jour Amer. Diet. Assoc.*, 20:289-297. Cit. en (12).

11. ROSS, SISTER HILARY & F. GEMAR.
1951. Studies on serum proteins in leprosy the alpha, beta and gamma globulin fractions. *Internat. Jour Leprosy* 19(4):445-452.

12. SCRIMSHAW, N.S., M. GUZMÁN, & J. MÉNDEZ.
1951. Interpretación de los valores proteicos del suero humano en la América Central y Panamá. *Bol. Of. San. Pan.*, 30(5):672-985.

13. STOUT, G.; J. MÉNDEZ, M. GUZMÁN & N.S. SCRIMSHAW.
1952. Reacciones serológicas para Sífilis presuntamente positivas falsas en la América Central. III. Relación con el contenido de proteína, albúmina y globulina en el suero. *Bol. Of. San. Pan.*, 33(2):110-115.

14. TRUCCO, S.E.
1950. *Análisis estadístico aplicado a los trabajos de investigaciones en Agricultura y Biología.* 2ª ed., XVI + 290 pp., 10 tablas. El Ateneo, Buenos Aires.

15. WOLFSON, W.Q.; COHN, C.; CALVARY, E. & F. ICHIBA.
1948. Studies in serum proteins; A rapid procedure for the estimation of total protein, true albumin, total globulin, alpha globulin, beta globulin and gamma globulin in 1,0 ml of serum. *Amer. Jour. Clin. Path.*, 18:723-730. (Technical Section).

Rev. Biol. Trop. 2(1):69-74

Prothrombin levels in yellow fever *

by

A. Trejos** and A. Romero***

(Received for publication May 10, 1954)

Since hemorrhagic manifestations constitute one of the most constant clinical features of yellow fever, we set out to study this diathesis in an attempt to analyze the vascular and physicochemical factors that might explain its causes.

Tourniquet tests in 30 patients were negative, hence we decided no capillary fragility existed.

Contrary to some statements in the literature, we found that coagulation and bleeding times were considerably increased in some cases, while in others they fell within normal limits. Furthermore we noted at times that both were prolonged, while at other times only the coagulation time was prolonged and the bleeding time was normal.

In spite of prolonged bleeding time the platelet counts were maintained between 100,000 and 200,C00 in 9 cases so studied.

Clot retraction studies provided no values showing any relevant relationships.

In 9 cases in which fibrinogen determinations were carried out we obtained no data at variance with the findings on plasma from normal control subjects.

Sedimentation rates in these same 9 cases were all within normal limits.

The determination of plasma prothrombin, however, provided very interesting results, largely accounting for the hemorrhagic diathesis in yellow fever, and proving of great prognostic value in evaluating the status of liver function.

By constructing a prothrombin curve it was possible for us to follow the evolution of the course of the disease and account for fatalities in most cases.

---

* Paper presented at the XXIII National Medical Congress.

** Laboratorio Bacteriológico, Hospital San Juan de Dios

*** Servicio de Enfermedades Infectocontagiosas, Hospital San Juan de Dios.

The QUICK method was used for the prothrombin determinations in 86 cases of yellow fever of whom 62 recovered and 24 died. This group comprises 42 patients admitted to the hospital in 1951, 43 in 1952 and one in 1953. Of the 42 in 1951 thirteen died; of the 43 in 1952 ten died. The one in 1953 died. Of the 24 fatalities, 22 died between the 6th and 12th day of illness. One died on the 19th day and another on the 27th day. One or more prothrombin determinations were made on each of these 86 patients, with a total of 118 determinations as follows: Only one test, 60 patients; two tests, 20 patients; three tests, 6 patients.

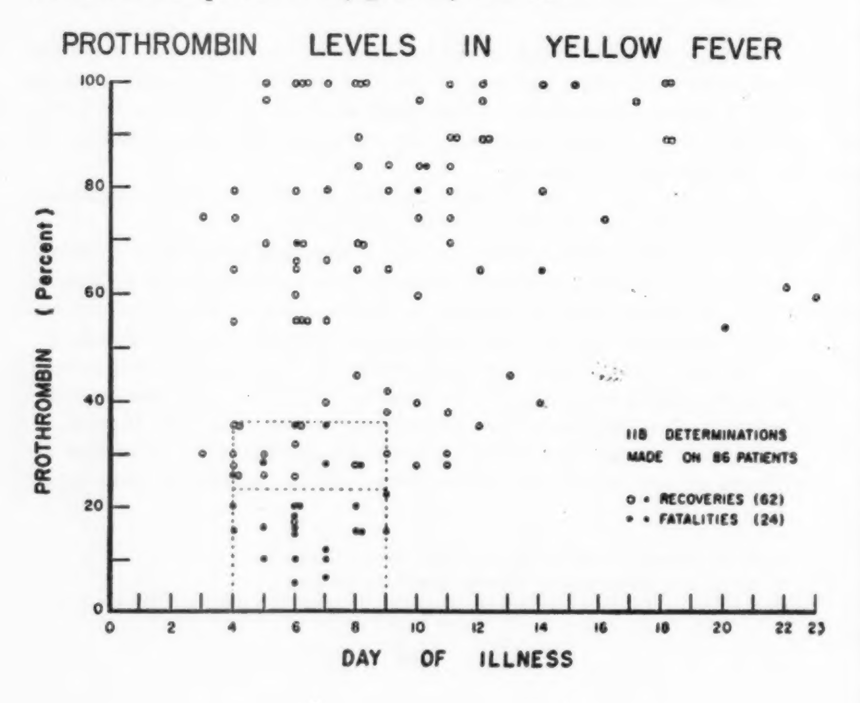
Prothrombin percentages were lower among the cases terminating fatally than among those who recovered.

The averages of the two groups were as follows:

Recoveries: In 84 determinations carried out from the 4th to the 18th day of illness the average prothrombin percentage was 66.7.

Fatalities: In 26 determinations the average was 20.25% (4 determinations made on patients who died after the 9th day of illness are not included).

On different days of illness it was noted that the prothrombin in those who recover is subject to a wide fluctuation, as shown on the chart. Determinations made in different patients from the 4th to the 8th day, for example, may range from 17% to 100%. These changes were consistent with the clinical condition of the patients on any given day of illness.



Percentage of prothrombin in cases where two or

Case	PROTHROMBIN % IN THE VARIOUS DAYS OF I											
	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°	10°	11°	12°
7						15	10		†			
12					28				22†			
16				25		70				85		†
75							12	15	†			
80							35			80†		
13							40				70	
14						17						35
15				35				100				
17				25		70				97		
18				27		35				85		
20				65		100						
31											30	
43												
44					25				38			
45						67				60		
46											27	
52								28				
57								70				97
63											38	
69								90				85
70						32					90	
74							56					
76									30			90
81						56						65
82											85	
85			30			26		85				

ere two or three tests wehere made

DAYS OF ILLNESS								Observations
1°	12°	13°	14°	15°	16°	17°	18°	
								decrease
								decrease
	†							increase
								small increase
								increase
70								
	35				75			slow increase
								rapid increase
30			40					slow increase
			100				90	slight decrease
								slight decrease
27				100				
							100	
	97							
38		45						
	85							slight decrease
90								
							90	
	90							
	65							
85			80					slight decrease
								decrease & increase.

In those patients who underwent fatal terminations the findings fell predominantly in the region of the average for such cases. Out of 30 determinations, 25 showed, 35% or less and only 5 yielded higher values. Four of these 5 determinations were made after the 9th day of illness.

Percentages below 25 were encountered only in cases with eventual fatal terminations, with the exception of Case Nº 14 in which the typical yellow fever virus was isolated, and in which the prothrombin rose subsequently to high levels, reaching 75% on the 16th day of illness. Hence, those cases which present prothrombin levels below 25%, between the 4th and 9th day of illness, have much less chance for recovery than those with percentages above 35 during this period.

Among the determinations made between the 4th and the 9th day with percentages varying from 25-35, 13 were made in 12 cases who recovered and 6 in 6 who died.

With reference to the five determinations in the 4 cases which differ from the majority of those with fatal terminations, the clinical study was very interesting in several respects.

In a case which attained a prothrombin percentage of 80 from a prior level of only 35% (Case Nº 80), the second blood specimen was taken on the 10th day, after the patient had been under intensive treatment with Vitamin K to perform a biopsy, and it is assumed that the liver was in a stage of regeneration and capable of metabolizing Vitamin K. The cause of death was probably extrahepatic.

Two other cases having 65% on the 14th day and 55% on the 20th day respectively, died because of the nephrotic lesions, the former with 480 mg/100 cc of blood urea, after having attained a maximum retention of 495 mg a few days before death, and the latter with 108 mg/100 cc, having already attained 138 mg/100 cc a few days before death. These two cases, hawever, had only single determinations.

The fourth case is that of Julio Ferreto (Case Nº 16), one of the most interesting of all, and the first in whom we observed a fatal termination in spite of rising prothrombin levels (25% on the 4th day, 70% the 6th day and 85% on the 10th day) to death on the 11th day, with a completely regenerated liver. Death was due to hemoglobinuric nephrosis.

In 5 patients who died it was possible to carry out 2 successive determinations in 4, and 3 in one. It was also possible to conduct serial determinations in 21 patients who recovered; 3 tests in 4 and 2 tests in 17. The data on these are summarized in the following chart.

Nº 16 corresponds to Julio Ferreto whose case we have already discussed. In cases 7, 12 and 75 the readings fell or exhibited only insignificant increases. In Case Nº 80 there was a definite rise, which we have already mentioned.

Among the recoveries we observed that in the majority there is a frank rise in prothrombin levels, rapid and early in some, while slow and delayed in others as the disease underwent its involution, indicative of a rapid liver regeneration

in the former group and a slower regeneration in the latter group. This hepatic regeneration permits the metabolism of Vitamin K which was given to these patients in high dosage.

In four cases there was a slight fall in the successive determinations, but, in contrast with the rises, this was always very small, never amounting to more than 10%.

ACKNOWLEDGEMENTS

The AA. wish to express their gratitude to Dr. Norman W. Elton for the translation of this paper, to Lic. Hernán Badilla for his assistance in the performance of the tests and to Dr. R. Lucas Rodríguez who read and corrected the manuscript.

CONCLUSIONS

1. Yellow fever is accompanied by a decrease in plasma prothrombin due to liver dysfunction.

2. The degree of diminution of the prothrombin level is proportionate to the severity of the liver lesion and generally related to the clinical findings.

3. High prothrombin levels during the period of the illness are of favorable prognostic significance, whereas levels below 25% are unfavorable.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

En vista de que las hemorragias son unas de las manifestaciones más constantes en la fiebre amarilla, se procedió a estudiar esta diátesis en un buen número de enfermos de la última epidemia que se presentó en Costa Rica.

Habiéndose descartado que las hemorragias tuvieran por causa una aumentada fragilidad capilar o trombocitopenia o fibrinopenia, se orientó la investigación hacia las determinaciones de la protrombina plasmática y estas últimas sí mostraron alteraciones importantes.

Empleando el método de Quick se realizaron determinaciones de protrombina en 86 enfermos de fiebre amarilla siendo que, de éstos, a 60 se les hizo una determinación, a 20 dos determinaciones y a 6 tres determinaciones.

Se observó que las determinaciones realizadas en individuos que sobrevivieron dan un porcentaje medio de protrombina significativamente mayor que aquellas practicadas en individuos que posteriormente murieron (66,7% en los primeros y 20,25% en los segundos).

Se hacen consideraciones con respecto al valor pronóstico de la determinación cuantitativa de la protrombina en la fiebre amarilla y se concluye que:

1). Debido a la lesión hepática, la fiebre amarilla determina una disminución de la protrombina plasmática.

2). La disminución más o menos acentuada está en relación directa con la gravedad de las lesiones hepáticas y en general, con la gravedad del cuadro clínico.

3). Las tasas altas de protrombina durante el período de estado son de buen pronóstico, al contrario de las tasas de menos de 25%, que son de muy mal pronóstico.

REFERENCE

QUICK, A. J.

1942. *The hemorrhagic diseases and the physiology of hemostasis.* XX + 340 pp. Charles C. Thomas, Springfield.

Rev. Biol. Trop. 2(1):75-112

Cladosporium carrionii n. sp. and the problem of Cladosporia isolated from chromoblastomycosis

by

A. Trejos *

(Received for publication June 29, 1954)

HISTORICAL REVIEW

No discussion will be made here of the generic position of *Fonsecaea pedrosoi, F. compacta,* and *F. dermatitidis,* which some authors include in the genus *Hormodendrum* (at present considered synonymous with the genus *Cladosporium***).

I believe these species should be maintained in the genus *Fonsecaea;* and in consequence, only those fungi will be studied here which show sporulation exclusively on *Cladosporium*-type conidiophores and which, like the above species and *Phialophora verrucosa,* have been isolated from cases of chromoblastomycosis.

The problem of *"Hormodendra"* isolated from chromoblastomycosis first came to light with the studies of SIMSON *et al.* (25) and of O'DALY (18). In 1947 CARRIÓN & SILVA (6) already referred to these strains as different from all other known causative agents of chromoblastomycosis, and called them *"Hormodendrum species"*. O'DALY (18) did not discuss the taxonomic position of his isolate, merely stating that it sporulated like a *Hormodendrum;* CARRIÓN & SILVA (6) agreed with him on that point.

The same year SIMSON, HARINGTON, and BARNETSON (25) described the first six cases reported from South Africa, and obtained cultures from two of

---

* Laboratorio Bacteriológico, Hospital San Juan de Dios, San José, Costa Rica.

** The opinion, that *Hormodendrum* or *Hormodendron* should be considered a synonym of *Cladosporium,* is accepted here, as expressed by VUILLEMIN (31), THOM (29), SKINNER *et al.* (26), LANGERON (14), EMMONS (1), DE VRIES (10), and others.

them. One of the cultures showed the characteristics of *Fonsecaea pedrosoi* (=*Hormodendrum pedrosoi*), as the photomicrographs illustrating their description clearly show. The other strain isolated, of much slower growth than the first, showed the peculiarity of having only *Cladosporium* (=*Hormodendrum*) type of sporulation in six different culture media. The authors also included very good photomicrographs of the conidiophores, and stated this strain had not been classified as yet.

In 1946 SIMSON (24) published six other cases of chromoblastomycosis. He mentioned that, out of a total of 12 cases seen by him, he had obtained cultures from 6, and that out of these 6, three had been determined as *Fonsecaea pedrosoi var. typica**. With regard to the other 3, he referred them first to a species of *Hormodendrum* similar to O'DALY's, but further on he called them "*Fonsecaea pedrosoi var. cladosporium*". At the beginning of his paper he mentioned the varieties described by CARRIÓN (3-4), including *Fonsecaea pedrosoi cladosporioides*, but later on he wrote "*Cladosporium*" instead of *cladosporoides*. Since there appeared no description of a *Fonsecaea pedrosoi Cladosporium* as a new variety, we must assume SIMSON meant to refer to *F. pedrosoi cladosporioides* and that a typographical error had been made.

In any case, the lack of conidiophores with "radula spores" in the sense used by Mason (pseudo-*Acrotheca* or *Trichosporium* type) and the lack of phialides (even though the presence of the latter is less significant because of their occurrence in some cultures and their absence in others) preclude the inclusion of these fungi in the genus *Fonsecaea* (Negroni 1936), *emend.* Carrión 1940, 1942 *et* 1950. The very *Cladosporium*-type conidiophores illustrated by SIMSON exhibit certain differences, to be discussed later from the *Cladosporium* type conidiophores of the species *F. pedrosoi* and *F. compacta*, and still greater differences from the blastospores in short branched chains reported by CARRIÓN (5), recently in *F. dermatitidis*.

SIMSON, in the same paper (24), reported sending to CARRIÓN the first isolated strain of this species, and receiving from him in a personal communication the opinion that the organism was a species of *Hormodendrum* quite similar to that isolated by O'DALY from a case in Venezuela.

At this point, POWELL (19) published in October 1952 an analysis of 31 Australian cases of chromoblastomycosis, which, added to the 5 cases previously known (13-27) raised the total for the country to 36. From these cases there have been isolated 19 strains, two of which have been classified as *Fonsecaea pedrosoi cladosporioides*, while the other 17, according to POWELL, resemble closely those described by SIMSON in South Africa in that they exhibit only *Cladosporium* (*Hormodendrum*) type conidiophores, of which he published very convincing illustrations.

---

* SIMSON, like CARRIÓN, wrote *F. pedrosoi typicus* but, "*varietas*" being feminine, the correct term is as set down above.

POWELL assumed SIMSON to have described *F. pedrosoi var. cladosporium* as a new variety, different from *F. pedrosoi cladosporioides.* As already pointed out, if the former name is not held to be a typographical or ortographical error, at least it must be assumed to be a *nomen ambiguum et dubium.* POWELL, though, raised this ambiguous name to specific rank, making it *Fonsecaea cladosporium.* Apart from the fact that neither SIMSON (24) nor POWELL (19) gave the Latin diagnosis of either the new variety or the new species, the same reasons could be adduced here to conclude that these strains can not be held to belong to the genus *Fonsecaea.* POWELL considered the habitat as the principal argument for the inclusion in that genus; but this criterion has been shown in numerous instances to be misleading, since the same species may give diverse clinical pictures. I recently pointed this out with regard to *Phialophora jeanselmei* (30). Also diverse species may produce a given clinical picture.

Relying, then, as much as possible on botanical criteria, the morphologic uniformity of O'DALY'S strain, SIMSON'S three and POWELL'S 17 leads to the grouping of all of them under one single specific designation, and the only genus which may harbor them without complicating mycological taxonomy is the genus *Cladosporium.*

In a recent publication, CAMPINS & SCHARYJ (2) described 34 cases of chromoblastomycosis, from 24 of which it was possible to isolate a *Cladosporium* (*Hormodendrum*) with the characteristics already noted for the other Venezuelan isolate, and for those from South Africa and Australia. The Venezuelan authors considered those 24 strains as undetermined. Four other strains studied by them were determined as *Fonsecaea pedrosoi cladosporioides,* and two as *F. compacta.*

Holding the ability of these dematiaceous fungi to produce in man the cutaneous granulomatous reaction known as chromoblastomycosis as a biological characteristic with taxonomic value equal to any other's, the possibility was considered of referring these cultures to *Cladosporium langeronii** before proceeding to describe a new species. *Cladosporium langeronii* (Fonseca, Leao *et* Penido, 1927 (12)) Vuillemin 1931 *n. comb.* (31) was isolated from ulcerating lesions along the course of the lymphatics of the arm and forearm, suggesting sporotrichosis; but subsequently has been referred to in the literature by ROTTER & PEÑA-CHAVARRÍA (23), ROTTER (22), CONANT & MARTIN (8) and REDAELLI & CIFERRI (21) as causative agent of chromoblastomycosis.

The investigation of this possibility proved quite difficult. When ROTTER & PEÑA-CHAVARRÍA isolated their strain, they sent it to DODGE, who determined it as *Hormodendrum langeronii.* No culture having been kept in Costa Rica, I requested it from DODGE, who answered (11) that it had been lost. As CONANT & MARTIN (8) mentioned working with it when discussing "*H. langeronii* 282 C.B.S. (Costa Rica)", I wrote to CONANT, who answered (7) that no culture

* The species *C. langeronii* was described, and appears in the literature, as *H. langeroni;* but, according to recommendation XL of the Rules of Botanical Nomenclature, it should be spelled - - ii.

remained in his laboratory, and that he had obtained it from the Centraalbureau voor Schimmelcultures. I wrote then to Dr. WESTERDIJK, who answered (32) that in the C.B.S. there was no culture of *H. langeronii* isolated from Costa Rica, nor did she remember there having been any; she offered the Brazilian strain, which I had secured already from the collection of the Instituto Oswaldo Cruz.

In my opinion, the Costa Rican material labelled by DODGE as *H. langeronii* is a strain of *Fonsecaea pedrosoi* similar to the other 43 I have been able to observe in autochthonous cases, while the material CONANT & MARTIN worked with is the Brazilian strain kept at the C.B.S. Even though I was unable to see the Costa Rican strain for the reasons given above, I find enough support for my opinion in the fact that the photomicrographs published by ROTTER & PEÑA-CHAVARRÍA, here reproduced by courtesy of Dr. PEÑA-CHAVARRÍA (figure 1), resemble the *Cladosporium*-type conidiophores of *F. pedrosoi* rather than those of *C. langeronii* (cf. CONANT & MARTIN (8), plate 3, figures 11-15). In addition *C. langeronii*, as we have been able to observe recently, is proteolytic, like the saprophytic species of the same genus, as MONTEMAYOR (17) pointed out, and as DE VRIES (10) recently remarked. The latter author, furthermore, proved that the strain of *C. langeronii* isolated in Brazil by FONSECA, LEÃO & PENIDO (12) is merely a strain of *Cladosporium sphærospermum* Penzig, 1882. Other strains of *C. sphærospermum* have been isolated from nail tissue, from the air, and from diverse plant materials.

In a photograph shown by ROTTER & PEÑA-CHAVARRÍA (*op. cit.*) of a culture in Löffler coagulated serum (figure 2) it is clearly apparent that the Costa Rican strain had no digestive action whatever on this medium. Lastly, the rate of growth of the culture studied by CONANT & MARTIN and its macro and micromorphologic characteristics correspond more closely to the Brazilian strain of *C. langeronii* than to the Costa Rican strain which bore the same name and which, as gathered from the publications of ROTTER and ROTTER & PEÑA-CHAVARRÍA (22-23), grew at a slower rate.

There being, then no similarity between the original strain of *C. langeronii* and those now under consideration, it seems justifiable to establish a new species. The characteristics separating *C. carrionii n. sp.* from *C. trichoides* Emmons, 1952 will be discussed below.

MATERIAL

We have been able to study 4 Australian strains, 2 received through the kindness of Dr. Chester W. Emmons of Bethesda, Md., U.S.A., and 2 obtained through the kindness of Dr. R. E. Powell of Brisbane, Queensland, Australia. They are:

Strain Nº 27. Received from Emmons in 1951 with the label, "*Hormodendrum* from Australia, Nº 8619".

Nº 28. Received from Emmons with the same date and label, with the number 8620.

Nº 35. Received from Powell in December 1952 with the indication, "*Fonsecaea cladosporium*, case A.M., isolated August 1952".

N° 36. Received from Powell in December 1952 with the indication, "*Fonsecaea cladosporium*, case J.T., isolated in November 1952".

Also, 3 strains from Venezuela, kindly forwarded by Dr. Humberto Campins, of Barquisimeto, as follows:

Strain N° 40. Received from Campins April 2, 1954, with the annotation, "Cr. 2."

N° 41. Received from Campins on the same date, with the annotation, "Cr. 3".

N° 42. Received from Campins on the same date, with the annotation, "Cr. 4".

The following species of *Cladosporia* have also been studied for purpose of comparison:

Strain N° 37. *Cladosporium trichoides.* Received from Emmons in March 1954 with the annotation, "Baltimore 8579. ATCC N° 10858".

N° 38. *C. trichoides.* Received from Emmons in March 1954 with the annotation, "Pennsylvania, 8580".

N° 23. *Cladosporium sphærospermum.* Received from Instituto Oswaldo Cruz in September 1952 with the annotation, "*Hormodendrum langeronii* N° 1127. isoado de lesoes nodulares e ulcerosas, semelhando esporotricose. Obs. Dr. Penido, 1927". This is the original strain of Fonseca, Leao & Penido.

N° 30. *Cladosporium fulvum.* Received from I.O.C. in September 1952 with the annotation, "*Cladosporium fulvum* N° 2204 - proveniencia Lab. Dr. Negroni, Buenos Aires, com a nota N° 680 *C. fulvum*, Washington, Dr. Ch. Thom. Date 1/IV/47".

Cladosporium carrionii n. sp.

Taxonomy

Class: Fungi imperfecti (=Deuteromycetes).

Order: Moniliales (=Hyphales = Hyphomycetes).

Family: *Dematiaceæ.*

Synonymy

Hormodendrum species Carrión *et* Silva, 1947 (6).

Fonsecaea pedrosoi var. cladosporium Simson, 1946 (24), *nomen dubium et confusum.*

Fonsecaea cladosporium Powell, 1952 (19), *nomen nudum.*

Hormodendrum species Conant *et al.,* 1954 (9).

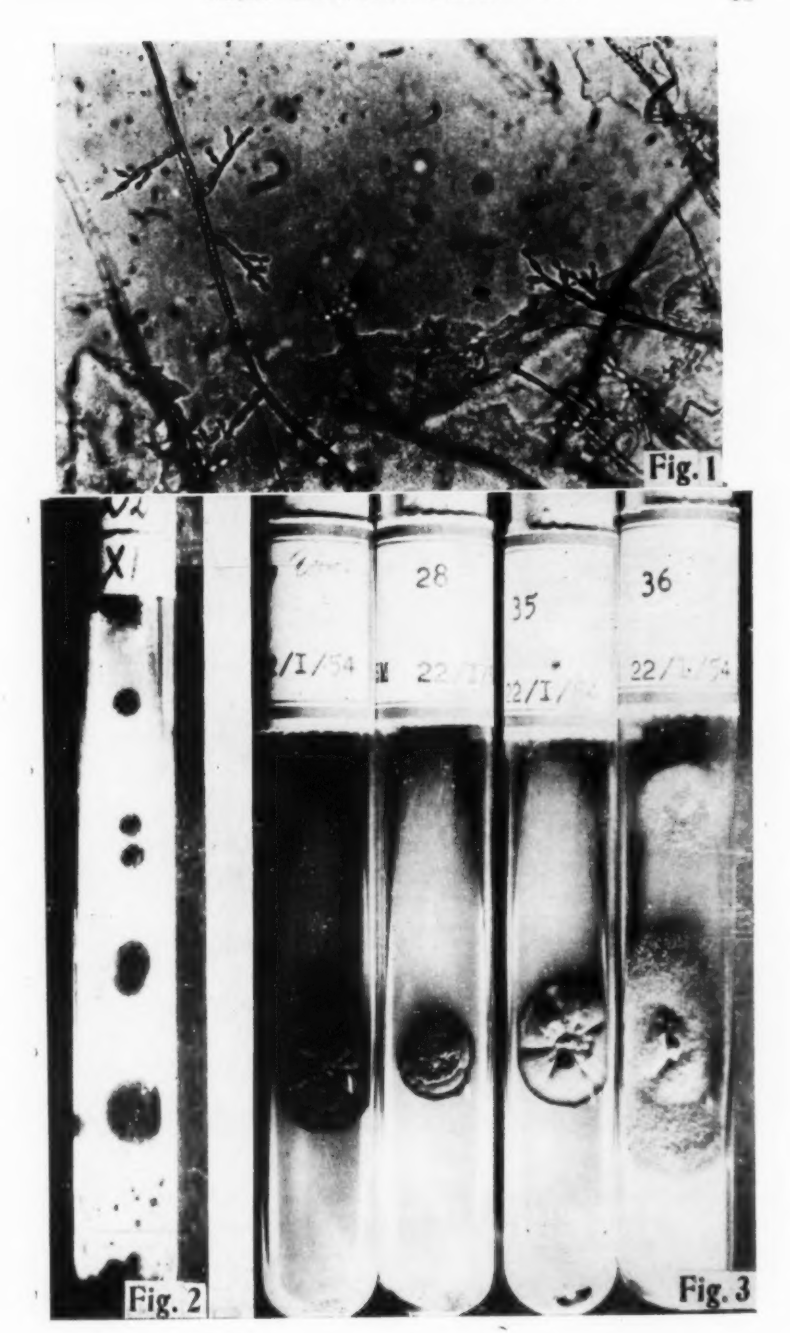
Geographic Distribution

Of the 46 known isolates of this species, 25 are from Venezuela, 18 from Australia, and 3 from South Africa. Of the Australian strains, 17 correspond to cases already published (19), the 18th. having been communicated subsequently by Powell (20).

Fig. 1: Conidiophores of the Costa Rican strain isolated by Rotter & Peña-Chavarría, which in our opinion is a strain of *Fonsecaea pedrosoi* but which was classified by Dodge as *Hormodendrum langeronii* (now *Cladosporium sphærospermum*). After Rotter & Peña-Chavarría.

Fig. 2: Culture in Löffler coagulated serum of the Costa Rican strain isolated by Rotter & Peña-Chavarría from a case of chromoblastomycosis. Note no digestion of coagulated serum. After Rotter & Peña-Chavarría.

Fig. 3: *Cladosporium carrionii n. sp.*, Australian strains grown 1½ months on Sabouraud's maltose agar.


28
35
36
22/I/54
22/I/54
Fig. 1
Fig. 2
Fig. 3

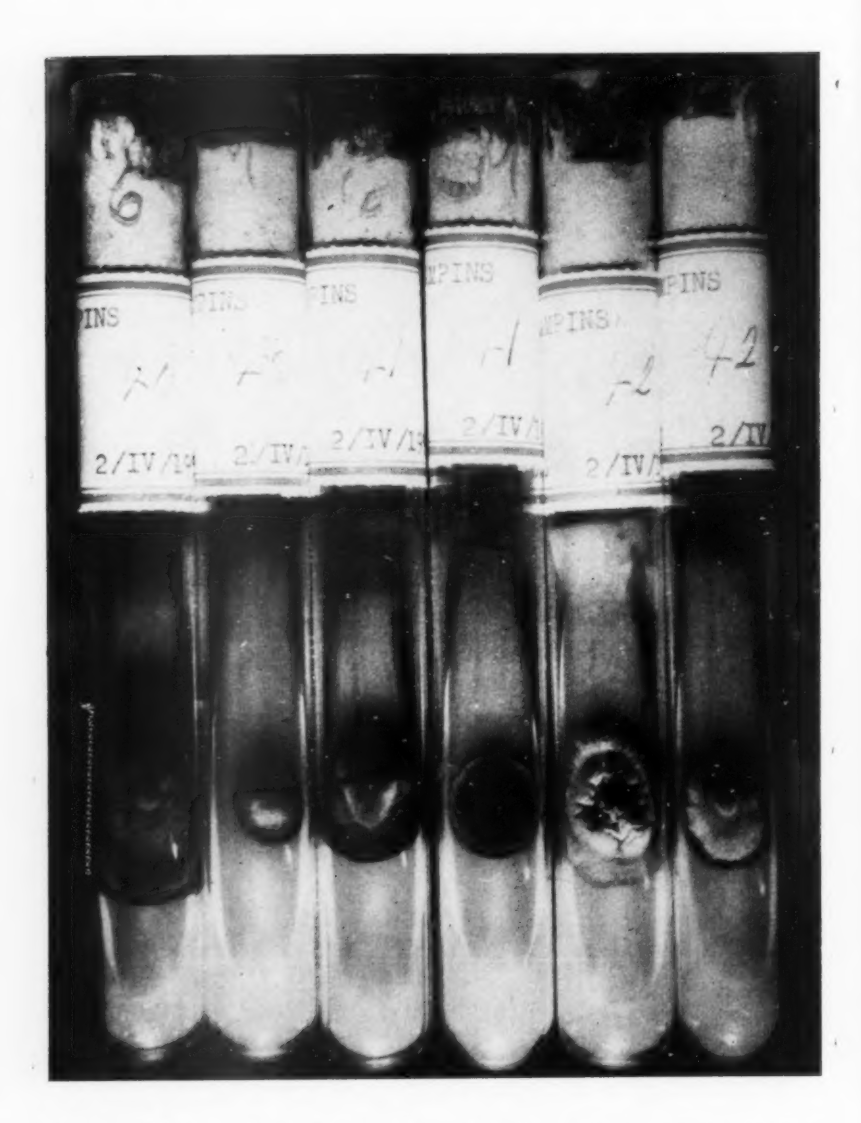


Fig. 4: *Cladosporium carrionii n. sp.* Venezuelan strains. Cultures 7 weeks old. Each of the three strains grown in Sabouraud's glucose agar on the left and on Sabouraud's maltose agar on the right.

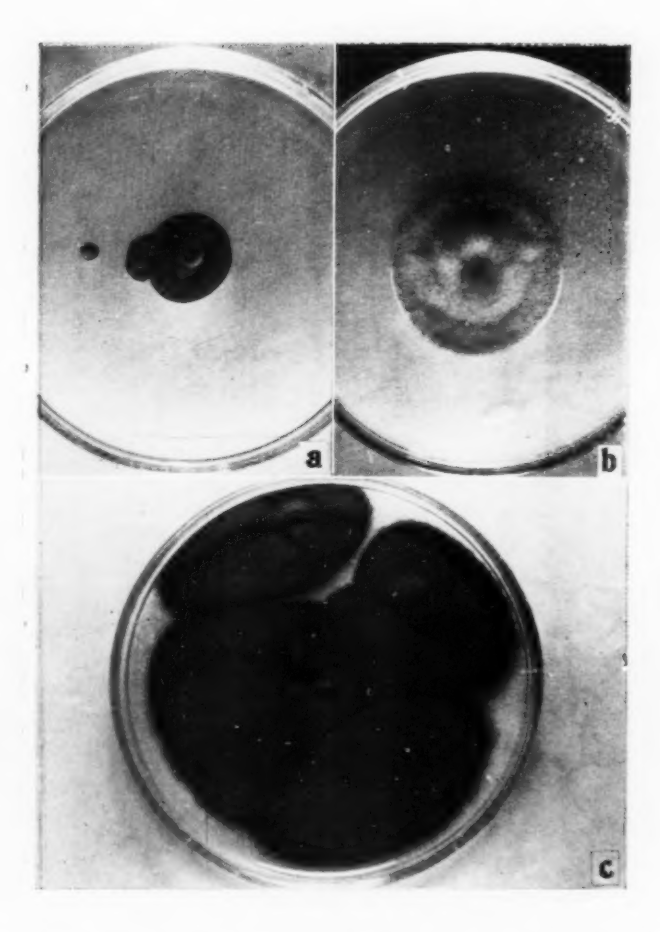


Fig. 5: Thirty-five-day cultures in Sabouraud's glucose agar of a. *Cladosporium carrionii n. sp.* Australian strain; b. *Fonsecaea pedrosoi*, strain received from Instituto Oswaldo Cruz; c. *Cladosporium sphaerospermum* (=*Hormodendrum langeronii*), original strain of Fonseca, Leao & Penido, isolated from a case of "mycosis resembling sporotrichosis".



Fig. 6: *Cladosporium trichoides*. Strains received from Emmons. Cultures 1 month old. Aspect of each of the two strains in Sabouraud's glucose agar, Sabouraud's maltose agar, and corn-meal agar.

HABITAT

All the cultures have been isolated from cases of chromoblastomycosis in man. The lesions show no clinical or histopathological differences from those caused by species of *Fonsecaea* or *Phialophora.* As in other known cases of the disease, lesions caused by *C. carrionii n. sp.* are cutaneous granulomatoses. The localization on patients' bodies is variable. The 3 cases reported by SIMSON (24) from South Africa were located on the legs. In Australia, on the other hand, location is preferently on the arms, as is the case in Venezuela according to the studies of CAMPINS & SCHARYJ (2). With regard to sex, the first South African case caused by the species in question and reported by SIMSON, HARINGTON & BARNETSON (25) was on a male. The Australian cases were all on males (19); but the Venezuelan cases were on approximately equal numbers of males and females.

As in the case of other dematiaceous fungi, causing chromoblastomycosis, this species probably exists in nature as a saprophyte on higher plants; but its life cycle is unknown so far.

MACROSCOPIC CHARACTERS

The aspect of colonies varies within certain limits; in some cases it is somewhat smoother in Sabouraud's glucose agar than in Sabouraud's maltose agar. In corn-meal agar the colony is almost wholly submerged.

Some cultures show radial furrows and are umbonate; other have folds and furrows giving them a somewhat cerebriform aspect. There may or may not be a central group of longer hyphae, but in general the aerial hyphae are quite short, giving the colony a furry aspect. The aerial hyphae are scarcely long enough for the surface to be mat and not glossy (figures 3 and 4).

The outline of the colony is usually well defined, with a darker halo of submerged mycelium around it (figures 3 and 4). However, in one of the Australian strains studied, that most recently isolated by POWELL (in December 1952), (figure 3, tube 36) there was no well defined outline, the rate of growth was slightly greater, and superficial hyphae were slightly longer.

The underside of the colony is black and the mycelium penetrates more or less deeply into the culture medium.

Cladosporium carrionii n. sp. grows more slowly than most typical strains of *Fonsecaea pedrosoi* studied, and much more slowly than *C. sphærospermum,* as shown in figure 5, illustrating cultures 35 days old. It also grows more slowly than *C. trichoides,* as may be seen comparing figures 3 and 4 showing, respectively, six- and seven-week cultures of *C. carrionii,* with figure 6, showing four-week cultures of *C. trichoides.*

Two-month-old cultures, depending on the culture medium (Sabouraud's glucose agar, Sabouraud's maltose agar) range from 14 to 40 mm. in their greatest diameter when grown in 18 x 150 mm. tubes at room temperature (25 ± 2°C).

Well-developed cultures show a grayish-brown color ranging in different cultures from "taupe" to "rose taupe", 16A4 and 16A6 of the color atlas of MAERZ & PAUL (16).

MICROSCOPIC CHARACTERS

The morphological characteristics of the fungus in human tissues do not permit distinguishing it from other causative agents of chromoblastomycosis, as may be gathered from the publications of those who observed the clinical cases.

The following characteristics are based on observations of slide cultures on Sabouraud's glucose agar, Sabouraud's maltose agar, and corn-meal agar, incubated for periods ranging from 1 week to 1 month at room temperature (25 $\pm$ 2°C). The microscopic aspect of slide cultures varies from one strain to another within bounds which can not be considered of specific rank. The morphologic characters of the strains studied are described collectively, with reference to peculiarities shown by a particular strain where pertinent.

The mycelium is formed by hyphae which may be of several types in a single strain. In general, there are aerial hyphae more or less tinged with a greenish color, or sometimes similar to the fumagoid forms observed in tissues during the parasitic phase. There are also decumbent hyphae, in various proportions with regard to the aerial hyphae and usually lighter in color than the latter. Both types are usually cylindric, uniformly pigmented, smooth-walled, and measure from 1 to 3 μ in diameter, generally 1.5 to 2.5 μ. Hyphae are septate, with septa at variable intervals. In a corn-meal agar slide culture of one of the Venezuelan strains (Nº 41) pigment deposits were observed irregularly scattered at various points on the walls, similar to those described by TAKAHASHI (28) in the fungus he named *Torula poikilospora.* The latter designation I consider a *nomen nudum,* since his description was based on elements in an incomplete stage of growth, which we have observed in the first transfers of diverse strains of chromoblastomycosis fungi whose classification is possible only after normal cultures have been obtained. TAKAHASHI's cultures, in my opinion, should be considered "Ankulturen" and not "Normkulturen", to follow the concepts of APPEL & WOLLENWEBER cited by LANGERON (14).

Besides the more frequent types of hyphae described above, it is possible to find decumbent hyphae with very thick, pigmented walls, formed by cubic or rounded cells (figure 7a). Sometimes such hyphae bear at the tips elements which may be considered analogous to chains of atypical spores (figure 7b). In other instances there may be found elements resembling chlamydospores (figure 7c), which may or may not have one or more septa.

In two of the Venezuelan strains (Nº 40 and 41) there appear with relative frequency some hyphae similar to those described by DE VRIES (10) in *Cladosporium macrocarpum* and which I have also observed in *Fonsecaea compacta* (figures 7d-e). The name of "coralloid hyphae" given by DE VRIES to such elements is most descriptive, but has the disadvantage of not suiting exactly the form of these hyphae, since it connotes growth in all planes and the hyphae

in question are extremely flattened, showing only lateral excrescenses on the plane parallel to the surface of the culture medium. Besides, the name "coralloid hyphae" has been used previously to designate somewhat different structures, such as the rhizoids of *Venturia circinans.* The hyphae termed "coralloid" by DE VRIES seem to have a structure similar to what LANGERON (14) designated generically "mycélium en palmettes", and their function is that of rhizoids or appresoria. In particular circumstances, an aerial hypha will descend until it comes in contact with the surface of the culture medium, from which point it will continue to grow more irregularly, developing lateral prolongations.

After a while there may appear at the tip of the "coralloid" hypha prolongations which again become aerial hyphae (figure 7e).

In Figure 7d septa are visible in "coralloid" hyphae, contrary to DE VRIES' (10) observations in those of *Cladosporium macrocarpum.* Figures 7f-g illustrate the aspect of such hyphae in strain Nº 40 of *C. carrionii n. sp.* from Venezuela.

Besides the chlamydospores observed in the somewhat toruloid decumbent hyphae (figures 7a-c), similar elements were found in aerial hyphae of two Venezuelan strains (Nº 40 - 41) (figures 8a-b). Such vesiculous elements, more or less pigmented and with more or less thickened walls, may be terminal, intercalary, or lateral in the aerial hyphae. Similar structures were also found in strain Nº 40 at the end of a chain of spores (figure 8c) or intercalary on sporophores and on atypical and irregular spore chains (figure 8d). On one occasion I observed what may be considered a chlamydospore linked laterally by a short peduncle to a hypha, and giving rise to a branched chain of spores (figure 8e).

DE VRIES (10) pointed out that true anastomoses are exceptional in the various species of *Cladosporia* studied by him. In Venezuelan strains of *C. carrionii n. sp.* I could not find true anastomoses either, but they do appear in variable numbers in Australian strains, in some slide cultures of which anastomoses were quite frequent, as shown in figure 8f. Besides true anastomoses, I observed, as did DE VRIES, hyphae which come in contact with each other, the walls remaining unaltered, and continue to grow parallel and close to each other without fusing.

A fact which I have not found mentioned in the literature, and which seems to me to have great trascendency with regard to the nature of spores in *Cladosporium,* is the occurrence of anastomoses between hyphae and spore chains (figure 9a) and between two neighboring spore chains (figures 9b-c). Other aspects of such anastomoses, which occur with some frequency in corn-meal agar slide cultures of strain Nº 36, are shown in figures 9d-f.

Sporulation in *C. carrionii n. sp.* occurs only in basifugal, branched spore chains. None of the investigators who have studied strains of this species have been able to find in any culture medium any other type of sporulation besides that typical of the genus. The conidial structures are what DE VRIES (10) called "*Hormodendrum*" type, symmetrical or asymmetrical, and more or less branched.

Sometimes chains of spores are seen to form on tips of hyphae without

Fig. 7: a. *Cladosporium carrionii n. sp.*, strain Nº 28. The margin of a month-old microcolony growing on Sabouraud's glucose agar. Note decumbent, thick-walled, pigmented hyphae made up of cubic or rounded cells. Most of the mycelium in this slide consisted of hyphae of this type. Lactophenol, X 450.

b. *Cladosporium carrionii n. sp.* strain Nº 28. Terminal chain of elements which may be considered atypical spores, in a month-old slide culture on Sabouraud's glucose agar. Lactophenol, X 450.

c. *Cladosporium carrionii n. sp.*, strain Nº 28. Chlamydospore-like elements observed in the hyhae of figure 7 a. Lactophenol, X 1000.

d. "Coralloid" hypha of *Fonsecaea compacta*, strain 1982 I.O.C. Corn-meal agar slide culture 1 month old. Lactophenol. Phase-contrast, X 1000.

e. Another view of the same preparation shown in d. Note coralloid hyphae formed from an aerial hypha and giving rise in tuın to other aerial hyphae. Lactophenol, X 200.

f-g. Ordinary and phase-contrast photomicrographs of "coralloid" hyphae in strain Nº 40 of *C. carrionii n. sp.* Sabouraud's glucose agar slide culture one month ol.d. Lactophenol, X 450.

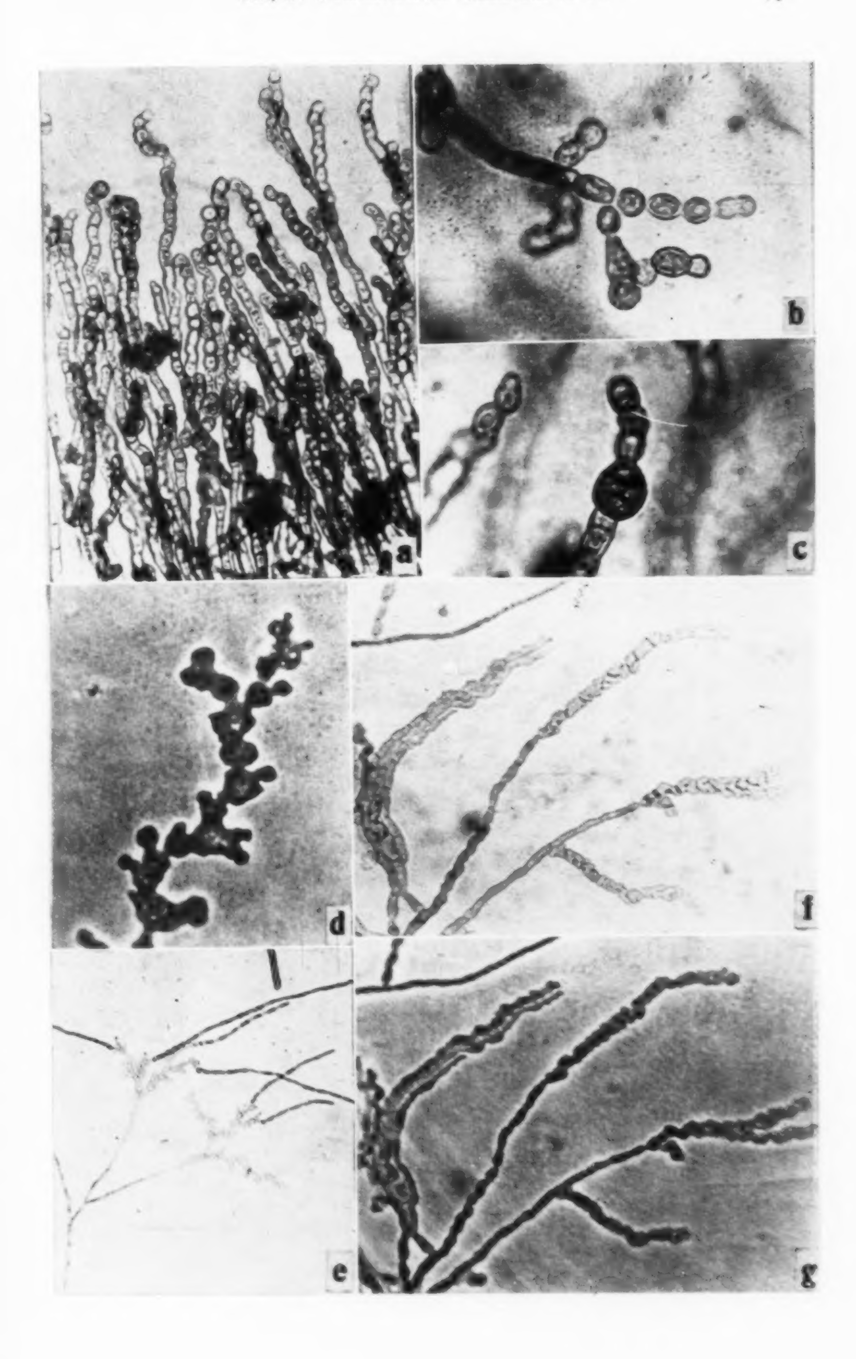

a
b
c
d
f
e
g

Fig. 8: a-e. *Cladosporium carrionii n. sp.*, strain N° 40, from Venezuela. Sabouraud's glucose agar slide culture one month old. Lactophenol, × 450.

a-b. Terminal and lateral enlargements in aerial hyphae.
c. Deeply pigmented, vesicular element, terminal on a spore chain.

d. The same type of elements, intercalary and terminal on irregular sporophores.

e. Lateral, well-pigmented, vesicular element which gave rise to a branched spore chain.

f. *Cladosporium carrionii n. sp.*, strain N° 36, from Australia. Corn-meal agar slide culture, 20 days old. Note numerous anastomoses. Lactophenol. Phase-contrast, × 200.

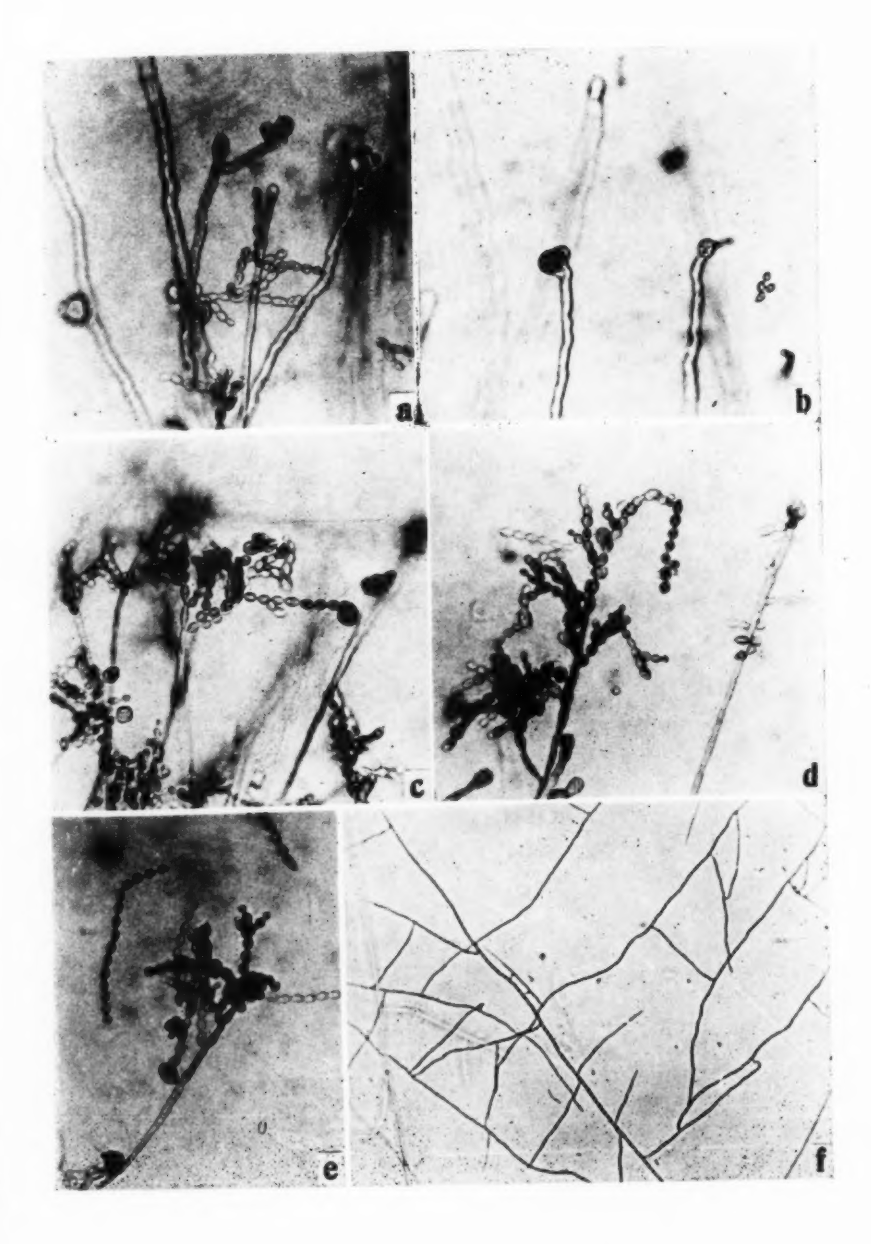

a
b
c
d
e
f

Fig. 9: *Cladosporium carrionii n. sp.*, strain Nº 36, from Australia. Corn-meal agar slide cultures of various ages.

a. Anastomosis between the terminal spore of a chain and a neighboring hypha. Culture 20 days old. Lactophenol. Phase-contrast. × 1000.

b-c. Anastomosis between spores of two neighbor chains arising from the same sporophore. Culture 10 days old. Lactophenol, × 1000. b, ordinary optic; c, phase-contrast.

d. Anastomoses between spore chains, and between spore chains and hyphae. Cultures 30 days old. Lactophenol, × 450.

e-f. Details of photomicrograph d. Lactophenol. × 1000.

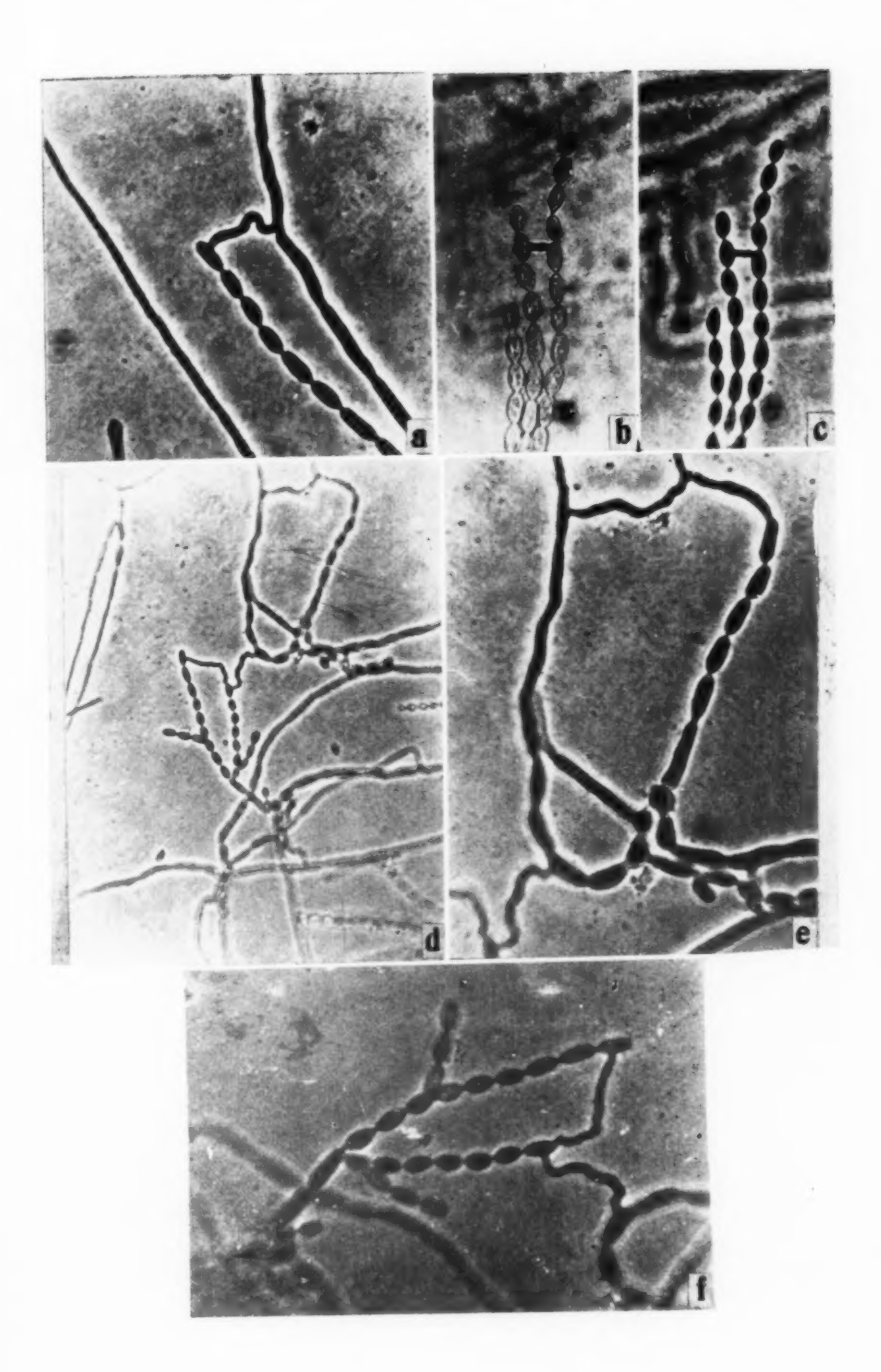

a
b
c
d
e
f

Fig. 10: *Cladosporium carrionii n. sp.* Strain Nº 27, from Australia. Sabouraud's glucose agar slide cultures of various ages. a, b, c, e, g, phase-contrast; d, f, ordinary optic.

a. Acrogenous spore chain. Culture 15 days old. Lactophenol, × 1000.

b. Branched, acrogenous spore chain. Culture 15 days old. Lactophenol, × 1000.

c. Pleurogenous spore chain. Culture 15 days old. Lactophenol, × 1000.

d. A group of sporophores of various lengths, with branched, rather short spore chains. Culture 1 month old. Lactophenol, × 200.

e. A typical sporophore. Lactophenol, × 1000.

f-g. Groups of sporophores. Lactophenol, × 450.

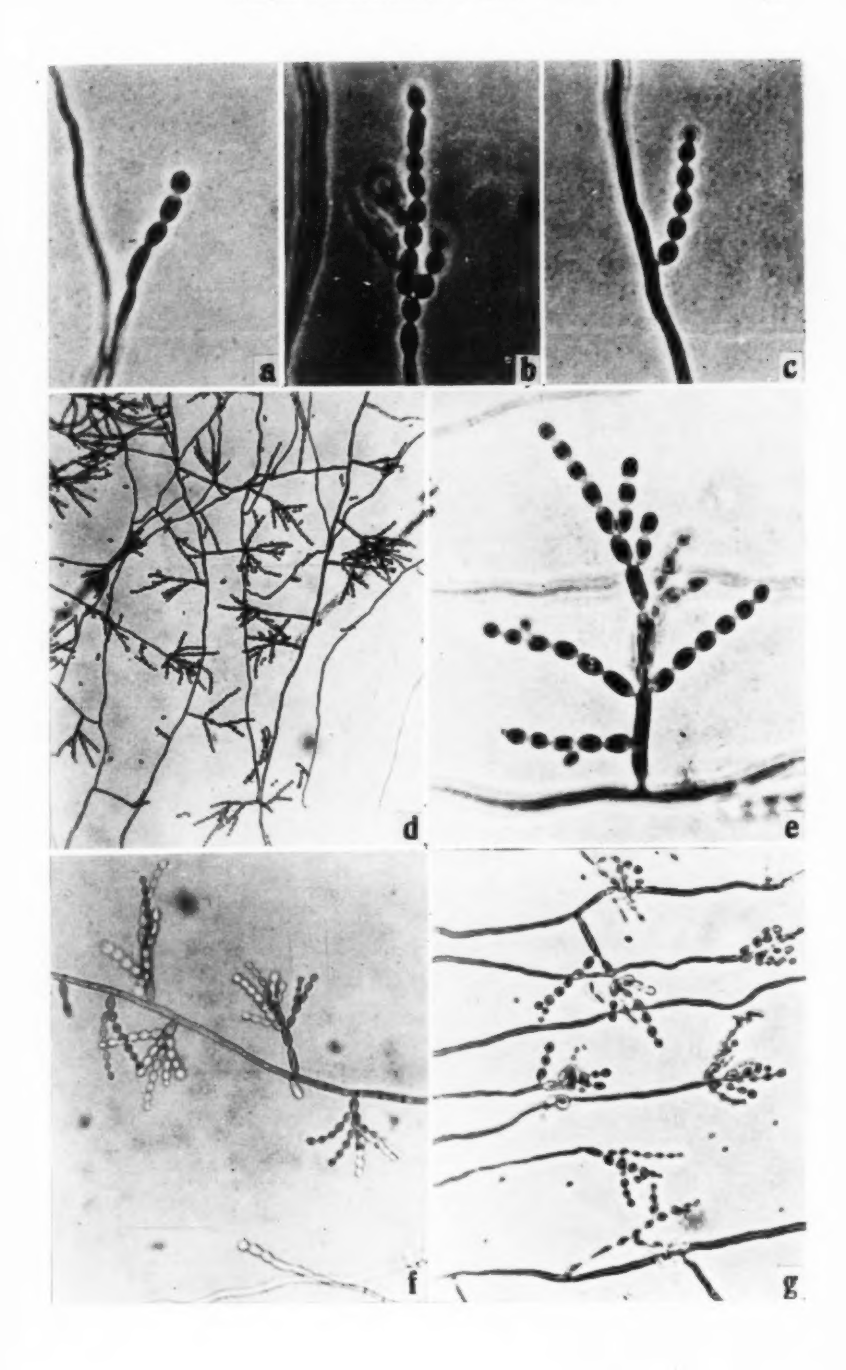

a
b
c
d
e
f
g

Fig. 11: a, b, c, d. Various sporophores of *C. carrionii n. sp.* strain Nº 28, from Australia. Sabouraud's glucose agar slide culture, 15 days old. a, with phase-contrast. Lactophenol, × 450.

e-f. *Cladosporium carrionii n. sp.* Strain Nº 36, from Australia. Corn-meal agar slide culture, 10 days old. Phase-contrast. Lactophenol, × 1000.

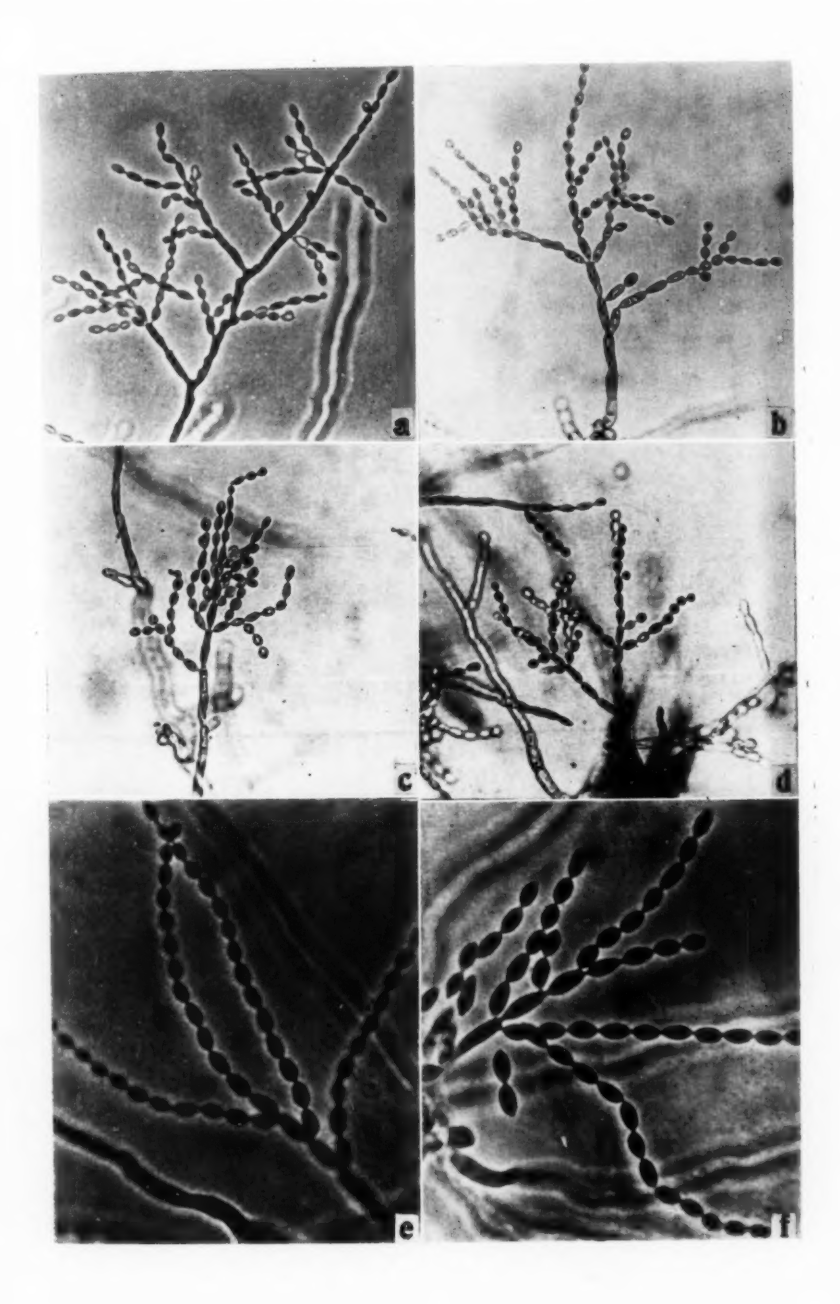

a
b
c
d
e
f

Fig. 12: *Cladosporium carrionii n. sp.*

a. Strain N° 36, from Australia. Corn-meal agar slide culture, 20 days old. Terminal and lateral sporophores. Lactophenol, × 450.

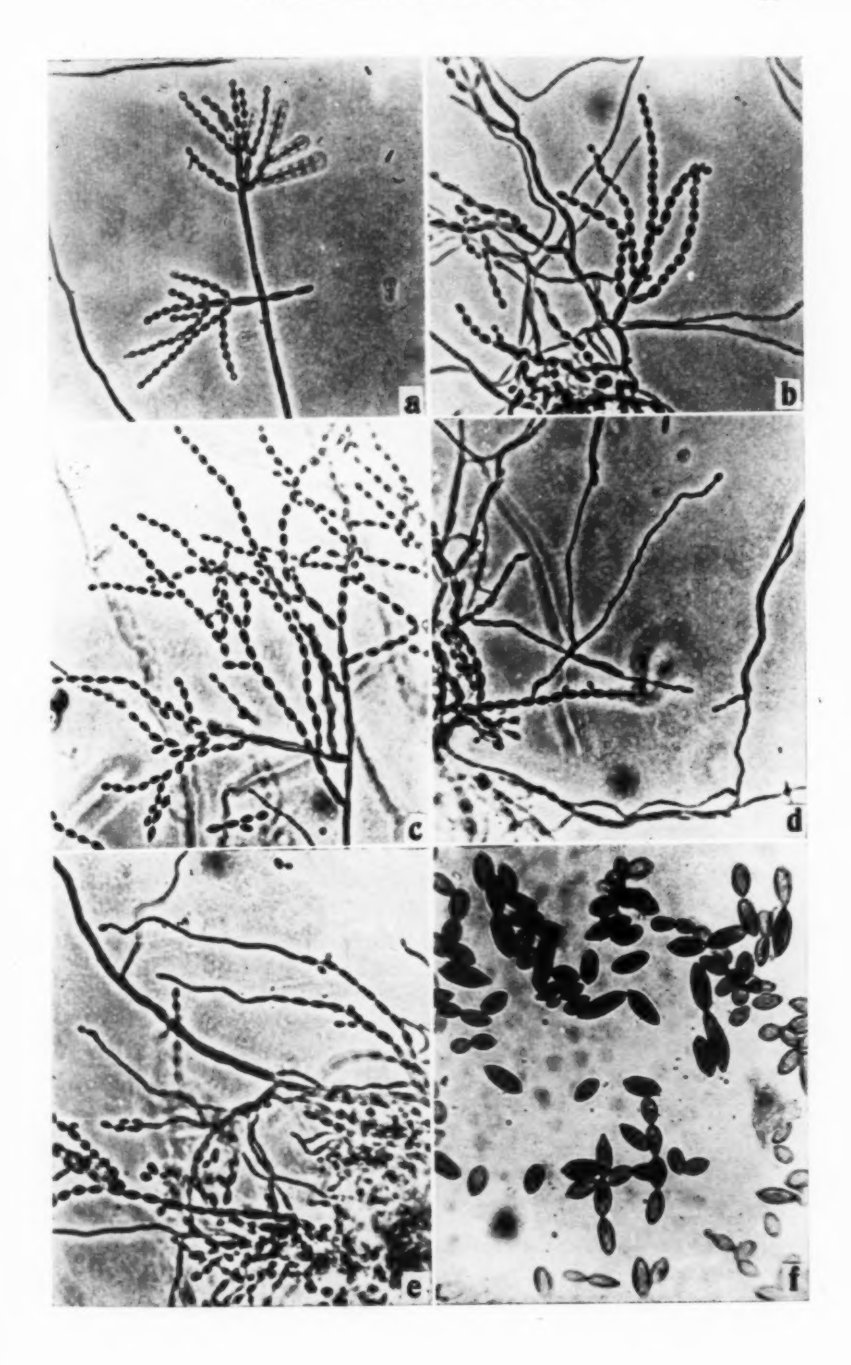
b. Strain N° 42, from Venezuela. Sabouraud's glucose agar slide culture, one month old. Lactophenol. Phase-contrast, × 450.

c. Strain N° 40, from Venezuela. Sabouraud's glucose agar slide culture, one month old. Group of sporophores seen with phase contrast. Lactophenol, × 450.

d-e. Strain N° 42, from Venezuela. Sabouraud's glucose agar slide culture, one month old. Phase-contrast. Lactophenol, × 450.

Note in d a mycelial thread arising from an intercalary spore in an unbranched chain, and bearing a spore terminally. In e, note spore chains whose distal members give rise to mycelial threads some of which bear spores terminally.

f. Strain N° 27, from Australia. Mature, detached spores from a month-old Sabouraud's glucose agar slide culture, × 1000.


a
b
c
d
e
f

the differentiation of a sporophore. Such spore chains are simple at first (figure 10a) and may branch later on (figure 10b) without any intermediate structures.

There are also more or less elongated and more or less branched sporophores, pigmented like the hyphae from which they originate.

The degree of sporulations is variable in the diverses strains and culture media; in general it is greater in corn-meal agar. Photomicrograph 10d shows a frequent aspect of sporulation in this species. In general, the longer spore chains are, the less branching they exhibit. Unbranched chains have been found with as many as 50 elements.

Small disjunctors are to be seen between spores in almost all cultures, showing like dark dots when the latter are dispersed (figure 11f).

Figures 10-12 illustrate diverse aspects of sporulation in Australian and Venezuelan isolates, which offer no differences worth considering with those of South Africa as shown in SIMSON'S (24) excellent photomicrographs.

In figures 12d-e some abnormalities may be seen which I refrain from interpreting. In Sabouraud's glucose agar slide cultures of strain Nº 42 from Venezuela, I have found with some frequency very fine mycelial threads, about 1 μ thick, originating from a spore and often bearing a new spore at the distal end. Such filaments rarely form from intercalary spores (figure 12d); they usually form from the terminal spores of the various chains, those preceding that from which the filaments arise already appearing more elongated than the spores of the proximal part of the same chain.

The shape of the spores varies within rather narrow limits according to the strain and the culture medium employed. In general, they are elliptic or oval (figure 12f); sub-cylindric or irregular shapes are rare, and in some cases sub-sphaeric elements are found. The walls are smooth and more or less pigmented. No typical septate spores have been observed; in the few instances of spores with one septum, the doubt always remained as to their being or not being fragments of a sporophore.

Thus far I have deliberately avoided referring to spores and sporophores as conidia and conidiophores. The nature of the spores in *Cladosporium* (=*Hormodendrum*) is a matter which repeatedly has provoked controversy. DE VRIES did not express a categorical opinion, remarking that the term "blastospore" is incorrect according to LANGERON and MASON. DE VRIES called them "conidia", or simply "spores". LANGERON (14) states that they must be considered thallospores, and, since they break off at the least mechanical disturbance, they must be considered to be dry arthrospores or xerospores. However, it seems difficult to harmonize this concept of arthrospores, forming in basifugal chains by budding of the last element, with the same author's definition of them as "being always formed by disarticulation of the thallus". It does seem, though, that the chains of spores in *Cladosporium* function as part of the thallus, since there must be necessarily a cytoplasmic connection between them. Such a concept is supported by the occurrence of true anastomoses between the chains of spores, and between spores and hyphae, as described above. In any case, it seems best to consider *Cladosporium* as having a particular type of spo-

rulation, and to designate its spores with the term, "thalloconidiospores". LANGERON (14) had already mentioned the "particular case of the Hormodendra" discussing conidiospores.

The dimensions of thalloconidiospores vary in the different strains of *C. carrionii n. sp.* studied. The smaller diameter is fairly constant, ranging from 2 to 3 μ, the most frequent size being 2.5 μ. The greater diameter varies as indicated in figures 13 and 14, which show frequency curves of longitude in μ of, respectively, the four Australian and three Venezuelan strains. The dimensions are seen to be from (3) 4 to 5 (9.5) μ; the means and other statistical constants are shown in Table 1, in which those obtained from two strains of *C. trichoides* are included for purposes of comparison.

TABLE 1

Statistical analysis of the length in micra of spores of seven strains of CLADOSPORIUM CARRIONII *and two strains of* C. TRICHOIDES.

Strain Nº	Species	Mean ± the standard error	Standard deviation	Coefficient of variation	Mode	Median
	C. carrionii					
27	" "	5.10 ± 0.17	1.65	32.35 %	4.47	4.84
28	" "	4.48 ± 0.11	1.08	22.31	4.87	4.89
35	" "	5.16 ± 0.06	0.62	12.02	5.51	5.48
36	" "	4.99 ± 0.09	0.85	17.03	5.32	5.21
40	" "	4.73 ± 0.08	0.81	17.12	4.65	4.76
41	" "	4.97 ± 0.10	1.01	20.32	4.89	5.15
42	" "	4.89 ± 0.08	0.76	15.54	5.33	5.23
37	*C. trichoides*	6.93 ± 0.18	1.78	25.68	7.28	7.27
38	" "	7.16 ± 0.22	2.18	30.44	6.75	7.61

DE VRIES' (10) methods have been followed in the statistical analysis of spore dimensions, as I think all future studies of new species of the genus *Cladosporium* must have as a point of reference his magnificent work which has come to fill an urgent need already recognized by EMMONS (1) when he described *C. trichoides*. One hundred spores were measured of each of the seven strains of *C. carrionii n. sp.* and of each of the two strains of *C. trichoides*. Measurements were made with a 45x objective and a 10x ocular with an eyepiece micrometer calibrated with a stage micrometer.

Statistical significance of the differences between means was evaluated with basis on the 99% probability interval, observing whether the difference

between means falls within that interval or not— i. e., observing, as DE VRIES did, whether the difference between two means is or is not at least 3 times greater than the standard error of that difference. In table I are shown, in addition to the mean spore length ± the standard error, the standard deviation and the coefficient of variation; and to complete the data, the median and the mode. DE VRIES did not include in his tables the median and the coefficient of variation, but I place them on record for the usefulness they may have in the future for purposes of comparison.

Analysis of the data obtained leads to the following conclusions:

1. Comparing the two most divergent mean values for strains of *C. carrionii n. sp.*, 4.73 ± 0.08 μ for Nº 40 and 5.16 ± 0.06 μ, of strain Nº 35, the difference obtained is $5.16 - 4.73 \pm \sqrt{0.06^2 + 0.08^2}\ \mu = 0.43 \pm 0.10\ \mu$. The difference between the two means is 4.3 times greater than the standard error of that difference. In other words, an interval with 99% probability gives 0.10 x 3 = 0.30 μ, and the difference of 0.43 falls outside such an interval. Therefore, the difference between the two means is statistically significant.

2. The comparison of each of the two extreme mean values with that of each of the other strains, and of the other strains with each other, (strains Nº 27, 28, 36, 41, 42) brings out no statistically significant differences.

3. The difference between the mean of 400 spores measured from the 4 Australian strains (5.02 ± 0.056 μ) and that of the 300 spores measured from the 3 Venezuelan strains (4.86 ± 0.041 μ) is not statistically significant.

Strains Nº 35 and 40 of *C. carrionii n. sp.* show no biological or morphological characteristics to justify specific separation. Neither do such differences exist between either strain and the other five studied (27, 28, 36, 41, 42). Yet there is a statistically significant difference between the mean spore lengths of strains 35 and 40. It appears, then, that small statistically significant differences between spore dimensions of two different strains should be given no taxonomic value when other morphological or biological differences are lacking. Likewise, it is possible to find spore dimensions with statistically equal means in two strains of species otherwise easily distinguishable, as in the case of the mean spore length obtained by me in strain Nº 35 of *C. carrionii* (5.16 ± 0.06 μ) and that found by DE VRIES in strain Nº 7 of *Cladosporium sphærospermum* (5.17 ± 0.08 μ).

On the other hand, the statistical study of spore dimensions contributes one more difference between *C. carrionii n. sp.* and *C. trichoides*. The mean length of the 700 spores measured of *C. carrionii* (4.95 ± 0.038 μ) shows a highly significant difference with that of 200 spores measured of *C. trichoides* (7.04 ± 0.140 μ).

Comparing the greatest mean length obtained from a strain of *C. carrionii* (strain Nº 35, 5.16 ± 0.06 μ) with the smallest from a strain of *C. trichoides* (strain Nº 37, 6.93 ± 0.18 μ), the difference obtained is slightly greater than 9 times the standard error of that difference (1.77 ± 0.19 μ), also a highly significant result.

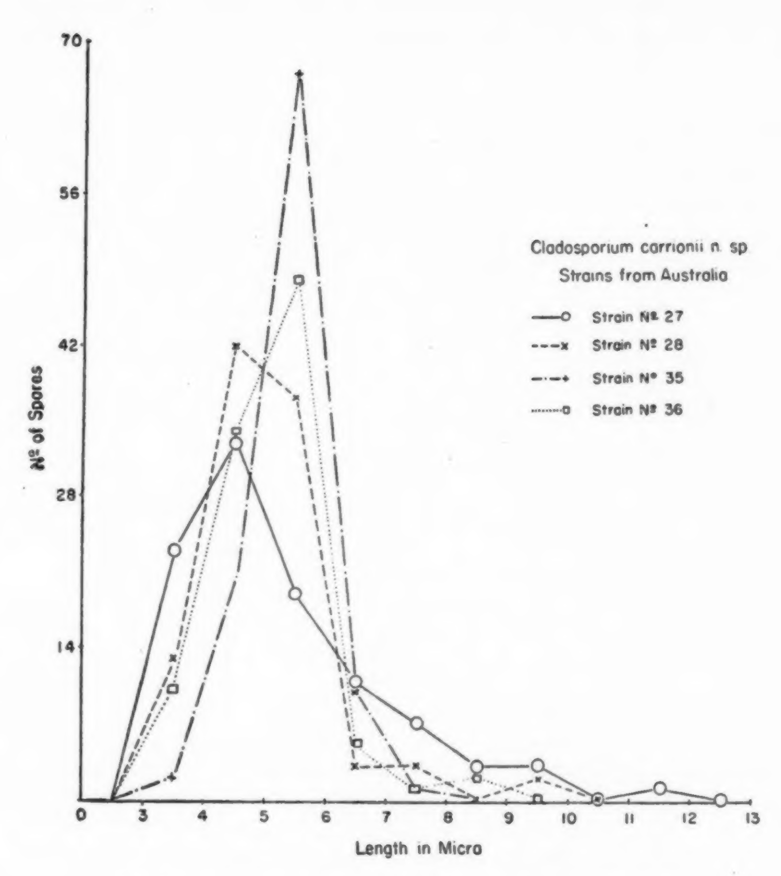


Fig. 13: Frequency curves of the length in μ of spores from four Australian strains of *C. carrionii n. sp.*

The frequency curves of spore lengths of the Australian and Venezuelan strains of *C. carrionii n. sp.* (figures 13 and 14) compared with those of the two strains of *C. trichoides* (figure 15) give also an objective idea of the differences existing between the two species.

BIOCHEMICAL CHARACTERS

Neither carbon source nor nitrogen source utilization data are discussed in this study, as they offer no important specific characteristics in the Dematiaceae. No pigment was observed to difuse in any culture medium.

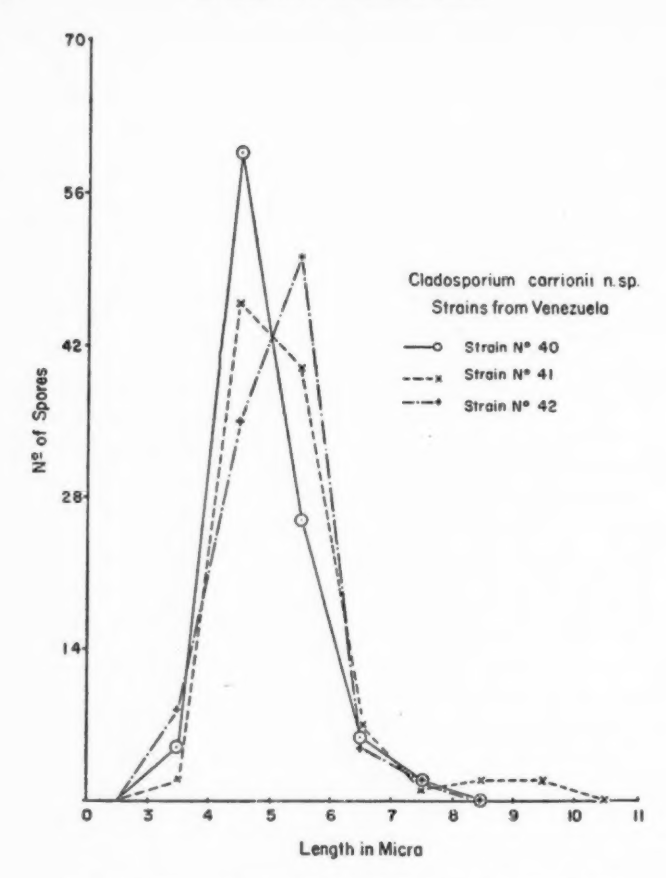


Fig. 14: Frequency curves of the length in μ of spores of three Venezuelan strains of *C. carrionii n. sp.*

The fact that *C. carrionii n. sp.* is devoid of proteolytic power for Löffler's coagulated serum seems to me of great importance, for reasons to be discussed further on.

Pathogenicity in laboratory animals

Simson *et al.* (25) made sub-cutaneous inoculations in *Cavia cobaya* and *Macacus rhesus* from the first South African isolate. The inoculum consisted of a thick suspension of spores and hyphal fragments. The animals were examined repeatedly during the next six months, but no lesions were observed to appear.

At present I am carrying out comparative studies on the pathogenic power of the species *C. carrionii n. sp.*, *C. sphærospermum*, *C. trichoides*, and *Fonsecaea pedrosoi* on mice, inoculating a million spores intravenously. Spore

suspensions are filtered so that no hyphal fragments are included, to prevent embolisms. The results are to be presented in full in a separate paper, but the data regarding *C. carrionii* may be given here, as obtained so far.

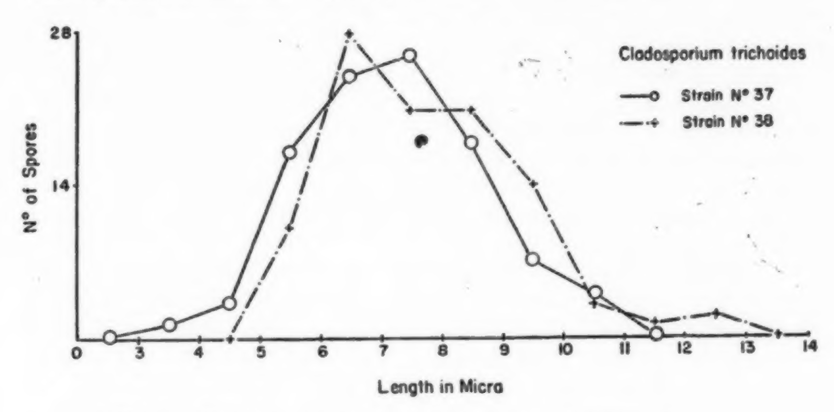


Fig. 15: Frequency curves of the length in μ of spores of two strains of *C. trichoides* Emmons, 1952.

A million spores suspended in 0.25 cc. of physiologic saline solution were injected into one of the tail veins of each of five adult male mice. In the morning of the 24th. day after inoculation, one of the mice was found dead; decomposition prevented carrying out an autopsy. The other mice were apparently normal.

On the 41st. day after inoculation, one of the four remaining mice was killed. Autopsy showed no macroscopic alterations in the organs of the thoracic and abdominal cavities or in the brain. Fragments of the organs were fixed in 10 % formaldehyde, and 4 corn-meal agar tubes were inoculated with small portions of brain tissue. Two months after inoculation the tubes were still sterile and were discarded. The three remaining mice retain a normal appearance three months after inoculation, at the date of writing, and are to be killed subsequently.

The microscopic alterations found in the sections of the diverse organs examined are the following.

Myocardium and spleen, without any appreciable inflammatory alterations. Hyperemia in the spleen. In the lung, very small foci of infiltration and condensation were found, similar to those observable in bronchopneumonia, but neither large enough nor abundant enough to warrant such a diagnosis. In the liver there were several small foci of lymphatic infiltration, scattered throughout the parenchyma near the vessels. The kidneys showed small foci of infiltration similar to those found in the liver, as well as a few somewhat larger, and some perivascular foci.

In the brain only 2 minute perivascular infiltration foci were found. Direct microscopic examination of a fragment of brain tissue squashed between a slide and a cover glass showed no hyphae or other structures of the fungus inoculated.

Latin diagnosis

*Cladosporium carrionii n. sp.**: *Communibus in mediis, glucoso ac maltoso Sabouraudii medio maydisque infusione agaro, cultus hic fungus, colonias leviter e substrati superficie eminentes, explicatas, sæpe radiatim sulcatas, centroque tuberanti, interdum umbilicato, bene limitato vulgo ambitu, format. Incrementum eius tardum, quod laboratorii temperatura (25 ± 2° C) culturarum magnitudo in tubulis 18 x 150 mm. duos post menses inter quattuordecim et quadraginta millimetra variare potest. Opaca coloniæ superficies brunneo-grisea (inter "taupe" et "rose-taupe", 16-A-4 et 16-A-6 secundum* Maerz *et* Paul*), tergum autem subatrum. In medium pigmentum non diffundit. Lœffleri serum coagulatum non liquefacit.*

Hyphæ aeriæ breves, septatæ, plus minusve pigmentæ, olivaceo-brunneæ, (1) 1,5-2,5 (3) μ crassæ, ex quibus laterales ac terminales sporophori, magnitudine varii, erecti procumbentesque, hyphis æque pigmentati, oriuntur. Sporulatio tantummodo secundum typum Cladosporium. Sporæ seu thalloconidiosporæ in catenis plus minusve longis ramosisque dispositæ, subhyalinæ vel olivaceo-brunneæ, continuæ, ellipsoideæ vel ovoideæ interdum subsphæricæ (3)4-5(9,5)x(2)2,5(3)μ metientes. Hyphæ decumbentes communiter membranis claris ac levigatis, in quibus et sporophori, interdum atypici, formari queunt. Coralloideæ structuræ atque toruloideum mycelium brevibus cellulis crassimembranatis ac pigmentatis compositum, cellulæ etiamque ampulliformes adesse possunt. Constantes non sunt anastomoses, hæ vero non tantum inter hyphas duas, sed etiam inter hypham et sporam vel inter sporas duas inveniri possunt. Patentem statu parasitico reductionem morphologicam præbet thallusque subsphæricis elementis fumagoidibus, circiter 10 μ diametro, cassimembranatis, flavo-brunneis, per septa producentibus, constitutus est.

Hominis cutis in læsionibus substratisque artificialibus habitat. E variis chromoblastomycosis casibus in Venetiola, in Africa Australi, in Australia collectus est.

DISCUSSION

Cladosporium carrionii n. sp. is easily distinguishable from the other species in the same genus studied by De Vries (10) by the absence of proteolytic activity.

It is interesting to note that, according to Montemayor (17) and MacKinnon *et al.* (15), this lack of proteolytic activity is common to the strains of *Fonsecaea* and *Phialophora* which also cause chromoblastomycosis in man and to *Phialophora jeanselmei*, the agent of black-grain maduromycosis and of chromoblastomycosis. In the course of this study I also found *Cladosporium*

* The specific name is given in honor of Professor Arturo L. Carrión, of San Juan, Puerto Rico, whose many studies on the etiologic agents of chromoblastomycosis constitute an outstanding contribution to the knowledge of this interesting group within the Dematiaceæ.

tricboides Emmons, 1952 to lack a digestive action on Löffler's coagulated serum. Since *C. tricboides* and *C. carrionii n. sp.* are two species whose pathogenicity in man has been thoroughly established, further investigation is needed to determine whether the proteolytic activity of species of *Cladosporium* is, as it seems to be, a valid differential character between the saprophytic (proteolytic) and pathogenic in man (non-proteolytic) groups.

Cladosporium carrionii n. sp. is distinguished from *C. tricboides* by the slower rate of growth in all culture media employed, by the mean spore length, which is much greater in the latter species (figures 12-14) and, lastly, as accessory differential characters, by the neurotropism of *C. tricboides* as contrasted with the dermotropism of *C. carrionii* during their parasitic life in man.

As to the lesions caused by the two species in laboratory animals experimentally inoculated intravenously with similar quantities of spores, no definitive data may be given at this time. Observations so far seem to indicate that *C. tricboides* is easily recovered from brain tissue of inoculated animals, while *C. carrionii* does not grow on cultures made from similar material. Results of inoculations in laboratory animals must be interpreted with reservations, as the mere intravenous injection of inert particles produces inflammatory alterations in diverse organs. Yet, according to the observations of BINFORD *et al.* (1) on experimental lesions caused by *C. tricboides* inoculated intravenously in rats and rabbits, and to my own observations on two mice and 1 rat killed so far from the group inoculated intravenously with 1 million spores of the same species, it would seem that *C. tricboides* shows a marked neurotropism, although it may also form lesions in other organs. Cerebral lesions are quite evident, consisting of proliferative inflammation of the meninges and focal proliferative inflammation, with very scanty exudative component, in the brain parenchyma. In the two cultures of brain material numerous colonies of *C. tricboides* were obtained, and in three cases I have found hyphae in fresh fragments of brain tissue squashed between a slide and a cover glass.

In the case of the mouse killed 41 days after inoculation with *C. carrionii*, no important cerebral lesions were found; direct examination of brain tissue showed no hyphae or other structures of the fungus, and cultures were negative. Therefore, the results obtained so far seem to indicate that, in animals inoculated intravenously, *C. tricboides* exhibits a marked neurotropism not observed in *C. carrionii*. The experiments now in progress should yield further information on the comparative pathogenic action of *C. sphærospermum*, *C. carrionii*, *C. tricboides*, and *Fonsecaea pedrosoi*.

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to thank my colleagues Lic. Hernán Badilla and Prof. Armando Ruiz for their collaboration in the present study. The Latin diagnosis of the new species was prepared by Prof. Ruiz, and revised by Dr. Domenico Vitola. Doctors Marcial Fallas and Rodolfo Céspedes have given their invaluable

cooperation in the interpretation of histological lesions observed in experimental animals. Sr. Leonardo Mata prepared most of the histological sections. Sr. Mario Romero, of the Dirección General de Estadística y Censos, carried out the statistical analysis of the data from spore measurements. I am indebted to Dr. R. L. Rodríguez for the English translation of the manuscript.

The present study would not have been possible without the generous collaboration of Doctors Chester W. Emmons, of Bethesda, Maryland, U.S.A.; R. E. Powell, of Brisbane, Queensland, Australia; and Humberto Campins, of Barquisimeto, Venezuela, who sent strains of *C. carrionii* and reprints of their publications. Dr. Libero Ajello, of Chamblee, Georgia, U.S.A., gave me valuable bibliographic references and posed questions which are answered in the present article.

To these, and to all other persons who in one way or another have contributed to the preparation of this work, I acknowledge my profound gratitude.

SUMMARY

An historical revision is made of the problem of *Cladosporia* isolated from cases of Chromoblastomycosis in various parts of the world, leading to the conclusion that the diverse strains isolated correspond to a single new species, whose description is given after a detailed study of seven strains which the author was able to study personally. The characters are also given which separate the new species from the other saprophytic members of the genus, and from *C. trichoides*, isolated from brain abscesses in the U.S.A.

The new species of chromoblastomycosis-causing fungus is named *Cladosporium carrionii* in honor of the illustrious Porto Rican mycologist Prof. Arturo L. Carrión.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se realiza una revisión histórica del problema de los *Cladosporia* aislados de casos humanos de cromoblastomicosis. Estas cepas se admiten como diferentes de las especies de los géneros *Fonsecaea* y *Phialophora,* pues únicamente presentan conidióforos tipo *Cladosporium* (=*Hormodendrum*).

Se dan las razones por las cuales se considera que la cepa aislada de un caso costarricense por ROTTER & PEÑA-CHAVARRÍA y que aparece en la literatura como perteneciente a la especie *Hormodendrum langeronii* (actualmente *Cladosporium sphærospermum*), en realidad no era un representante de esta especie.

Se llega a la conclusión de que la uniformidad de las cepas que presentan únicamente conidióforos tipo *Cladosporium,* y que fueron aisladas de cromoblastomicosis en Venezuela, Sur Africa y Australia, justifica el que sean todas incluídas en una nueva especie cuya descripción se da, proponiendo para ella el nombre de *Cladosporium carrionii* en homenaje al ilustre micólogo puertorriqueño Prof. Dr. Arturo L. Carrión.

La descripción de la especie es la siguiente:

Cladosporium carrionii n. sp.

Cultivado en los medios comunes (Sabouraud glucosado y maltosado y "Corn-meal agar") este hongo forma colonias ligeramente elevadas de la superficie del substrato, extendidas, a menudo con surcos radiales, con el centro abultado o algunas veces umbilicado y generalmente con el contorno bien delimitado. Su crecimiento es lento ya que el tamaño de las colonias puede variar en distintas cepas entre 14 y 40 mm después de dos meses a la temperatura del laboratorio (25 ± 2°C), cuando cultivado en tubos de 18 x 150 mm. La superficie de la colonia es opaca, de color pardo grisáceo, que varía entre "taupe" y "rose taupe", 16 A 4 y 16 A 6 según MAERZ & PAUL. El reverso de la colonia es negro. El pigmento no difunde en el medio de cultivo. No tiene acción proteolítica sobre el suero coagulado de Löffler.

Hifas aéreas cortas, septadas, más o menos pigmentadas, pardo olivaceas, de (1) 1,5-2,5(3) μ de diámetro, de las cuales se originan esporóforos laterales y terminales de diversos tamaños, erectos y decumbentes e igualmente pigmentados que las hifas. Esporulación únicamente del tipo *Cladosporium*. Esporas o taloconidiosporas dispuestas en cadenas más o menos largas y más o menos ramificadas, subhialinas o pardo oliváceas, sin septos, elipsoides u ovoides, algunas veces subesféricas, que miden de (3)4-5(9,5)x(2)2,5(3) μ. Hifas decumbentes por lo general con membranas claras y lisas, en las cuales también se pueden formar esporóforos, algunas veces atípicos. Pueden observarse estructuras coraloides y micelo toruloide, compuesto de células cortas, de membranas gruesas y pigmentadas, así como también células ampuliformes. Las anastomosis no son constantes, pero éstas pueden encontrarse no sólo entre dos hifas, sino también entre una hifa y una espora, o entre dos esporas. Durante el estado parasitario muestra una acentuada reducción morfológica y el talo está constituído por elementos fumagoides subesféricos, alrededor de 10 μ de diámetro, con gruesas membranas pardo amarillentas y que se reproducen por septos.

Habita en lesiones de la piel del hombre y en los medios artificiales de cultivo. Ha sido aislado de varios casos de cromoblastomicosis en Venezuela, Africa del Sur y Australia.

Se sugiere que el poder proteolítico de las especies del género *Cladosporium* permite, por el momento, separar las especies saprófitas (proteolíticas) de las patógenas (no proteolíticas). Entre estas últimas figuran las especies *C. trichoides* y *C. carrionii*. La diferenciación entre estas dos se hace tomando en cuenta las dimensiones de las esporas, el aspecto macroscópico y velocidad de crecimiento de las colonias en los medios artificiales de cultivo, el neurotropismo de la primera y el dermotropismo de la segunda cuando parasitan al hombre y la patogenicidad para los animales de laboratorio.

REFERENCES

1. BINFORD, CH. H., R. K. THOMPSON & MARY E. GORHAM

1952. Mycotic brain abscess due to *Cladosporium trichoides*, a new species. Report of a case. With mycologic report by C. W. EMMONS. *Amer. J. clin. Path.* 22(6):535-542.

2. CAMPINS, H. & M. SCHARYJ

1953. Cromoblastomicosis. Comentarios sobre 34 casos, con estudio clínico, histológico y micológico, *Gac. méd. Caracas* 61(3-4): 127-151.

3. CARRIÓN, A. L.

1940. The specific fungi of chromoblastomycosis. *Puerto Rico J. publ. Hlth.* 15(4): 340-361.

4. CARRIÓN, A. L.

1942. Chromoblastomycosis. *Mycologia* 34:424-441.

5. CARRIÓN, A. L.

1950. Yeastlike dematiaceous fungi infecting the human skin. Sspecial reference to so-called *Hormiscium dermatitidis*. Reprint with addendum from *Arch. Derm. Syph.* (Chicago). 61: 996-1009.

6. CARRIÓN, A. L. & MARGARITA SILVA

1947. Chromoblastomycosis and its etiologic fungi. In Nickerson, *Biology of pathogenic fungi*. Chapter 3° Pgs. 20-62. Chronica Botanica Co. Waltham, Mass.

7. CONANT, N. F.

1952. Personal communication.

8. CONANT, N. F. & D. S. MARTIN

1937. The morphologic and serologic relationships of the various fungi causing dermatitis verrucosa (chromoblastomycosis). *Amer.* J. *trop. Med.* 17(4): 553-557.

9. CONANT, N. F., D. T. SMITH, R. D. BAKER, J. L. CALLAWAY & D. S. MARTIN

1954. *Manual of clinical mycology*. 2ª ed. XII+ 456 pp. W. B. Saunders Co. Philadelphia.

10. DE VRIES, G. A.

1952. *Contribution to the knowledge of the genus Cladosporium Link ex Fr.* Thesis. XVI + 121 pp. Centraalbureau voor Schimmelcultures. Baarn.

11. DODGE, C. W.

1950. Personal communication.

12. FONSECA, O. DA, A. E. ARÉA LEÃO & J. C. N. PENIDO

1927. Mycose du type ulcéro-nodulaire, semblable á la sporotrichose et produite par *Hormodendrum langeroni*. *C.R. Soc. Biol.* (Paris). 97: 1772-1774.

13. Hicks, J. D.

1946. Chromoblastomycosis: report of a case. Reprint from the *Med. J. Aust* 1946 (2):705.

14. Langeron, M.

1945. *Précis de mycologie.* 274 pp. Masson et Cie. Paris.

15. Mackinnon, J. E., L. V. Ferrada & L. Montemayor

1949. Investigaciones sobre las maduromicosis y sus agentes. *An. Fac. Med.* (Montevideo). 30(1-2-3): 231-300.

16. Maerz, A. & M. Paul

1950. *A dictionary of color.* 2ª ed. VII + 208 pp. Mc. Graw-Hill Book Co., Inc. New York.

17. Montemayor, L.

1949. Estudio de las propiedades biológicas de varias cepas de hongos patógenos causantes de la cromomicosis, y de especies vecinas saprófitas y patógenas. *Mycopathologia* (Amst.) 4(4): 379-383.

18. O'Daly, J. A.

1943. La cromoblastomicosis en Venezuela. *Rev. Sanid.* (Caracas). 8:655. *Cit. in* Montemayor (17).

19. Powell, R. E.

1952. A survey of chromoblastomycosis in Queensland. *Aust. J. Derm.* 1(4): 214-222.

20. Powell, *R. E.*

1952. Personal communication.

21. Redaelli, P. & R. Ciferri

1942. Le granulomatosi fungine dell'uomo nelle regioni tropicali e subtropicali. Vol. V. *Trattato di micopatologia umana.* XV + 698 pp. Sansoni Edizioni Scientifiche. Firenze.

22. Rotter, W.

1934. Micosis en Costa Rica. *Mem. 2º Congreso med. centroamericano.* Págs. 196 203. Imprenta Nacional. San José, Costa Rica.

23. Rotter, W. & A. Peña-Chavarría

1934. Weitere Untersuchugen über Blastomykosen in Costa Rica. *Arch Schiffs- u. Tropenhyg.* 38(10): 406-417.

24. Simson, F. W.

1946. Chromoblastomycosis. Some observations on the types of the disease in South Africa. *Mycologia* 38: 432-449.

25. Simson, F. W., C. Harington & J. Barnetson

1943. Chromoblastomycosis: a report of six cases. *J. Path. Bact.* 55: 191-198.

26. SKINNER, C. E., C. W. EMMONS & H. M. TSUCHIYA

1948. *Henrici's molds, yeasts and actinomycetes.* 2ª ed. XIV + 409 pp. John Wiley & Sons Inc. New York.

27. STEVENS, F. R. T.

1947. Chromoblastomycosis. Reprint *Med. J. Aust.* 1947(1):93.

28. TAKAHASHI, Y.

1937. Zur Chromoblastomykose (I Mitteilung) Über Chromoblastomykose verursacht durch *Torula poikilospora n. sp.* Reprint from the *Jap. J. Derm. Urol.* 41(1): 153-177, in Japanese. Summary in German. 13 pp.

29. THOM, CH.

1940. Naming molds. *J. Washington Acad. Sci.* 30(2): 49-64.

30. TREJOS, A.

1953. Evidence for synonymy of *Torula bergeri* and *Phialophora jeanselmei. Mycologia* 45(2): 253-259.

31. VUILLEMIN, P.

1931. *Les champignons parasites et les mycoses de l'homme.* 290 pp. Paul Lechevalier et Fils. Paris.

32. WESTERDIJK, JOHANNA

1952. Personal communication.

INFORMACION PARA LOS COLABORADORES

Esta REVISTA publica sólo trabajos originales e inéditos

El COMITE DE REDACCION se reserva el derecho de aceptar o rechazar los trabajos recibidos. Los originales en ningún caso serán devueltos.

Los trabajos deben ser enviados en papel blanco de carta, escritos a máquina, a doble espacio y en páginas numeradas, indicándose la institución donde fueron realizados. Se aceptan trabajos que tengan como máximo 20 páginas; sólo excepcionalmente y a juicio del COMITE DE REDACCION, se publicarán trabajos mayores.

Se aceptan artículos en los siguientes idiomas: castellano, inglés, francés, portugués, italiano y alemán. Es obligatorio por lo menos un resumen en castellano.

La corrección de las pruebas de imprenta estará a cargo de los autores, pero se advierte que los trabajos enviados deben tener carácter definitivo.

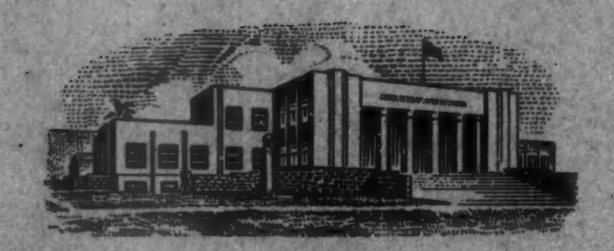
Se aceptan fotos, cuadros y diseños, gráficos, etc. en tinta china y en número prudente, tomándose en cuenta las dimensiones de la REVISTA.

Las ilustraciones serán enviadas en hojas aparte con el nombre del autor y el número de la figura. Las leyendas correspondientes serán agrupadas por separado. En caso de microfotografías es necesario especificar el aumento.

Las citas bibliográficas, escritas en hoja aparte, seguirán el siguiente orden: apellido e inicial del nombre del autor, año, título del artículo por extenso, nombre de la revista (abreviación reconocida), volumen, número, primera y última página del artículo. En caso de libros, debe especificarse además la casa editora, lugar y número de edición.

Serán entregadas gratuitamente 50 copias de sus trabajos a los autores que están suscritos a la revista. Los no suscritos recibirán únicamente 10 copias.

Suscripción anual: Costa Rica ₡ 10.00. Otros países $ 2,00
Número suelto : Costa Rica ₡ 6,00. Otros países $ 1,25



IMPRENTA FALCÓ LTDA.

